

3

DNA → RNA → Proteina

- ✚ Il DNA è una **molecola informativa**. L'informazione è immagazzinata **nell'ordine in cui sono disposte le sue quattro basi differenti**.
- ✚ Questo ordine è trasferito alle molecole di **RNA**, che sono usate per dirigere **l'ordine degli amminoacidi delle proteine**.

3 Acidi Nucleici : Il RNA può essere catalitico

- ✚ Alcune molecole di RNA, dette **ribozimi**, possono fungere da **catalizzatori**.
- ✚ La scoperta dei ribozimi ha fornito una possibile soluzione per la questione su quale composto è comparso prima, quando la vita è iniziata, le proteine o gli acidi nucleici?
- ✚ Dato che il RNA può essere sia **informazionale** che **catalitico**, esso potrebbe avere funzionato come catalizzatore sia per la sua stessa replicazione che per quella delle proteine.

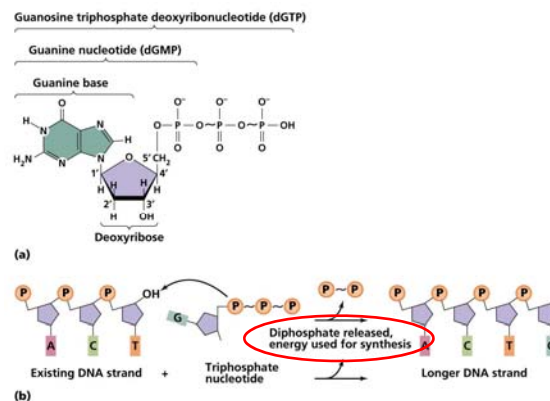


- ✚ Le cellule contengono istruzioni che:
 - Specificano la **STRUTTURA**
 - Dettano la **FUNZIONE**
 - Regolano l'**ATTIVITA'**
- ✚ Le istruzioni vengono trasmesse fedelmente alle cellule figlie
- ✚ L'informazione ereditaria è trasmessa sotto forma di unità distinte, i **GENI** del **DNA** costituiti da nucleotidi.
- ✚ L'informazione del DNA passa:
 - fra generazioni di cellule: **REPLICAZIONE DEL DNA**
 - all'interno di ogni cellula: **TRASCRIZIONE + TRADUZIONE**

Precursori del DNA: Nucleosidi trifosfato

- ✚ Sia il DNA che l'RNA vengono **sintetizzati** a partire da **nucleosidi trifosfato**:
- ✚ Per il **DNA**: **dATP**, **dCTP**, **dGTP** e **dTTP**
- ✚ Per il **RNA**: **ATP**, **CTP**, **GTP** e **UTP**.
- ✚ In entrambi i casi, dal momento in cui ogni nucleoside viene legato alla catena in crescita, **il secondo e il terzo gruppi fosfato vengono rimossi** (idrolizzati).

- ✚ **I nucleosidi 5-trifosfati sono i precursori per la sintesi degli acidi nucleici.**



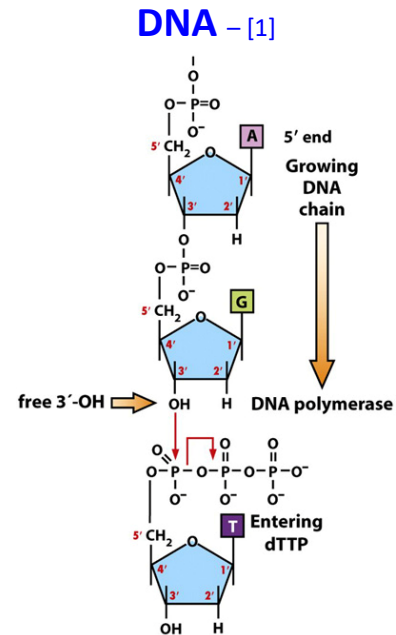
La replicazione di una molecola di DNA richiede la polimerizzazione di **nucleotidi ricchi di energia speciali**, detti **deossiribonucleotidi trifosfato**, dato che sono legati a tre gruppi fosfato. L'energia rilasciata dalla rimozione enzimatica di due dei tre fosfati è utilizzata per il legame di ogni nucleotide alla catena crescente di nucleosidi.

<http://academic.pgccc.edu/~kroberts/Lecture/Chapter%207/replication.html>

✚ In una molecola di DNA, da migliaia a milioni di nucleotidi si susseguono in una catena mediante **collegamento di un gruppo fosfato sia al carbonio 5' di una molecola di desossiribosio che al carbonio 3' di una seconda molecola di desossiribosio** (in questo processo viene rilasciata una molecola di acqua).

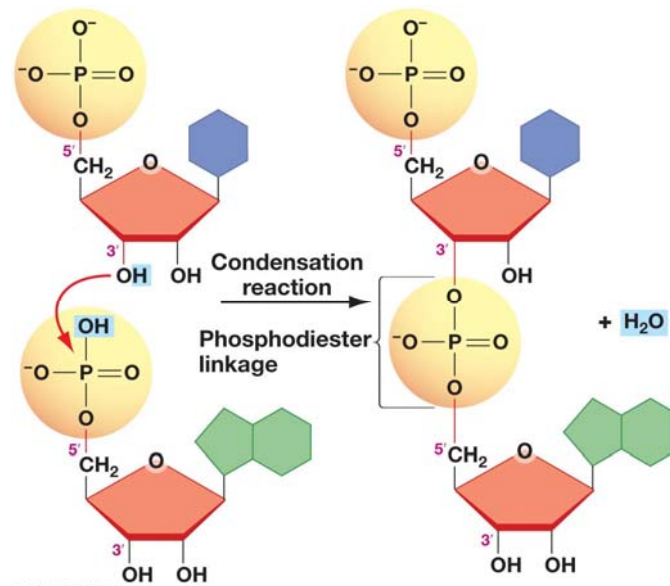
✚ Poichè i nucleotidi sono collegati da legami fra le loro componenti zucchero e fosfato, si dice che il **DNA** ha una **impalcatura («backbone»)** altamente **polare** di **zucchero-fosfato**.

✚ Il **legame** (covalente) si chiama **fosfodiesterico**

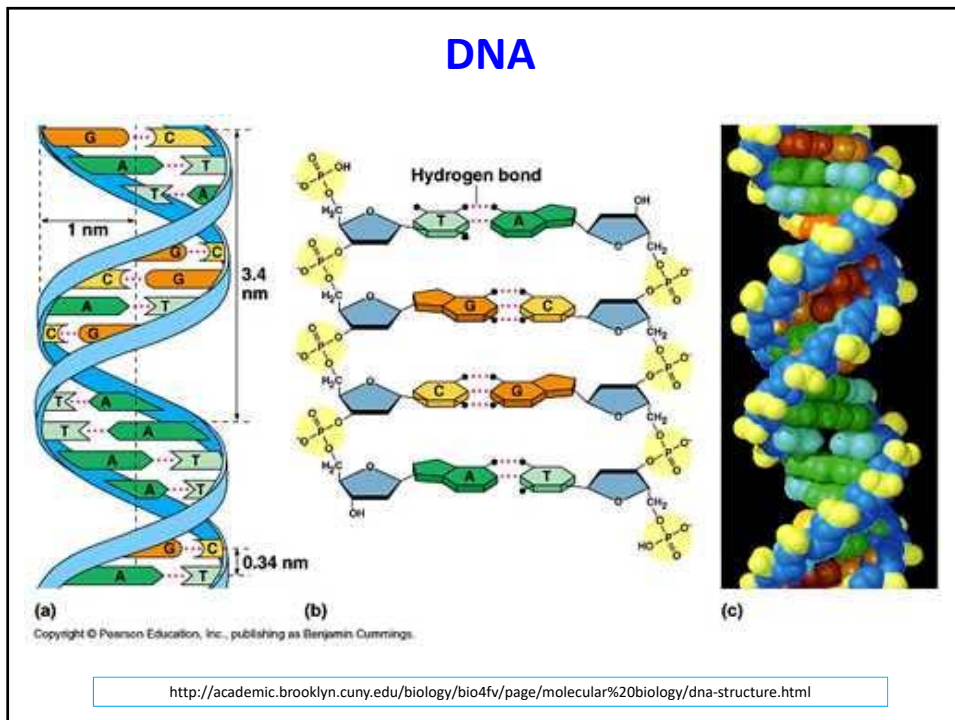
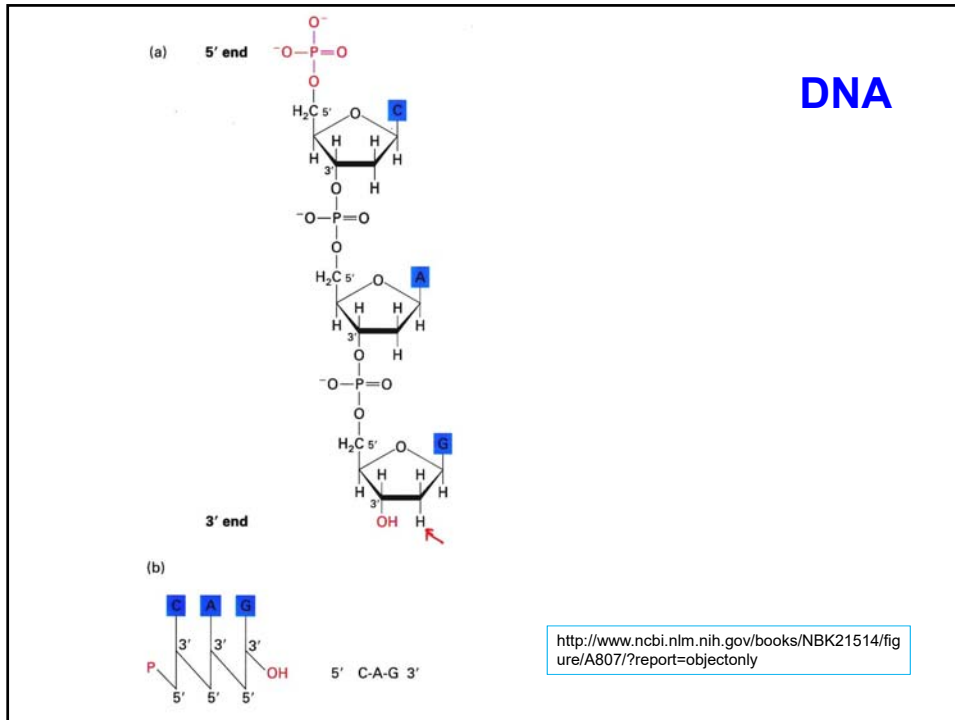


Kreuzer & Massey: *Biology and Biotechnology*

http://rowdyites.msudenver.edu/~churchcv/BIO3600/bio3600_images/phosphodiester_bonds.jpg



<http://www.uic.edu/classes/bios/bios100/lectures/dna.htm>



The Race for the Double Helix



Francis Crick & James Watson



Linus Pauling



Maurice Wilkins



Rosalind Franklin

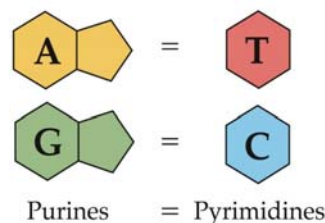
LA CORSA PER LA SCOPERTA DELLA STRUTTURA DEL DNA



Erwin Chargaff
(1905-2002)

1^a Regola di Chargaff

In una molecola di DNA, il n° di unità di Guanina è uguale al n° di unità di Citosina e il n° di unità di Adenina è uguale al n° di unità di Timina



2^a Regola di Chargaff

La composizione del DNA varia da una specie all'altra, in particolare nella quantità delle basi A, T, G e C.

DNA Base Composition:

$$A = T$$

$$G = C$$

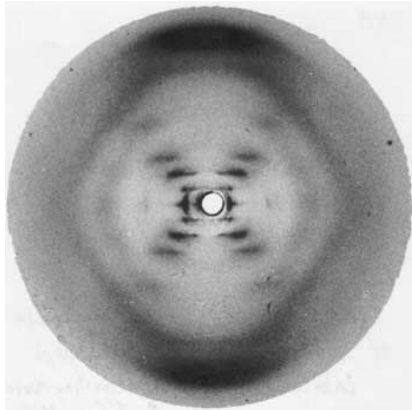
Regole di
Chargaff

TABLE 5.1 Base compositions experimentally determined for a variety of organisms

Species	<u>A:T</u> = 1	<u>G:C</u> = 1	<u>A:G</u>	<u>% GC</u>
Human being	1.00	1.00	1.56	Low
Salmon	1.02	1.02	1.43	↓
Wheat	1.00	0.97	1.22	
Yeast	1.03	1.02	1.67	↓
<i>Escherichia coli</i>	1.09	0.99	1.05	
<i>Serratia marcescens</i>	0.95	0.86	0.70	

$$A = T$$

$$G = C$$



Photograph 51

https://en.wikipedia.org/wiki/Photo_51

La fotografia di diffrazione (di raggi X) della forma B del DNA fatta da **Rosalind Franklin** nel Maggio del 1952 é stata di lungo la migliore fotografia di questo tipo. Dati ricavati da questa foto furono decisivi per permettere a James Watson e Francis Crick di costruire il modello del DNA che ha fatto vincere ad essi il premio Nobel. (Norman Collection on the History of Molecular Biology in Novato, Calif.)

Conclusioni di Watson & Crick sulla struttura del DNA (1953)

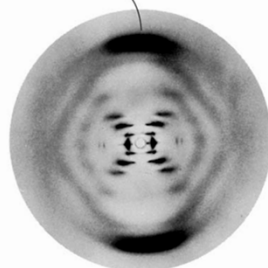
✦ *Tratte dai dati cristallografici di Rosalind Franklin e Maurice Wilkins*

- Due catene polinucleotidiche elicoidali si avvolgono attorno ad un asse centrale con un diametro di **20 Angstrom** (10^{-10} m).
- Le due catene sono antiparallele (scorrono in direzioni opposte).
- Le impalcature di zucchero-fosfato rimangono all'esterno della struttura.
- Le basi azotate sono perpendicolari all'asse dell'elica e separate da 3.4 Angstroms.
- La struttura elicoidale si ripete ogni 34 Angstroms, e quindi ci sono 10 basi per giro dell'elica.

DNA molecules are usually double helices

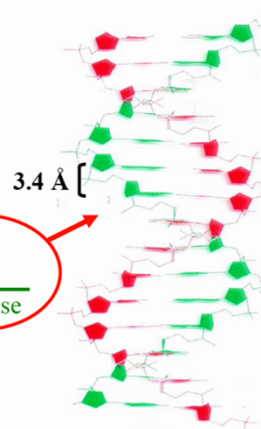
X-ray diffraction from a hydrated DNA-B fiber.

3.4-Å spacing



The central cross is diagnostic of a helical structure. The strong arcs on the meridian arise from the stack of basepairs

Double helix



Dati ottenuti da Rosalind Franklin e coll. - [1]

- ✚ I quadri di diffrazione dei raggi X attraverso un cristallo di DNA indicavano una **molecola elicoidale**.
- ✚ I quadri fornivano la **larghezza dell'elica** e la **spaziatura fra le basi azotate** lungo di essa.
- ✚ La elica è costituita da due filamenti (contrariamente al modello proposto da Linus Pauling di tre filamenti, simili alla molecola di collagene).
- ✚ Lavori non pubblicati da Franklin ma letti da Watson & Crick: **le impalcature di di zucchero-fosfato erano rivolte verso l'esterno della molecola di DNA** (contrariamente a quanto da loro postulato).

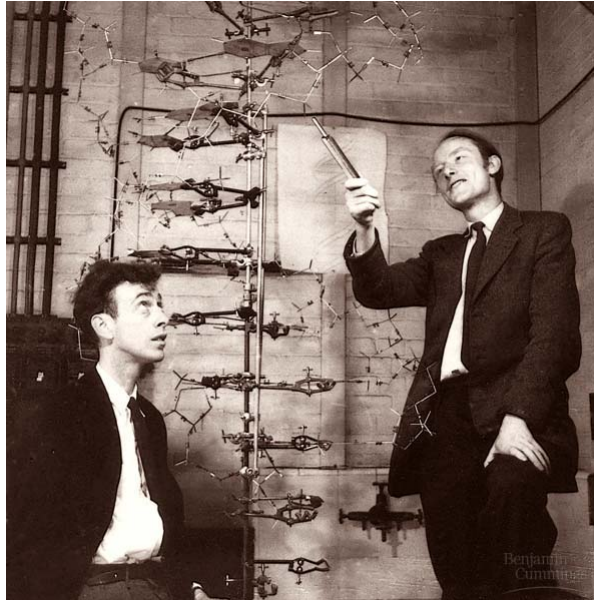
Campbell, Biology.

Dati ottenuti da Rosalind Franklin e coll. - [2]

- ✚ La disposizione suggerita dalla Franklin era stimolante in quanto poneva le **basi azotate reattivamente idrofobiche all'interno della molecola**, allontanandole dalla soluzione acquosa circostante.
- ✚ Inoltre, i gruppi carichi negativamente dei fosfati non erano costretti a stare vicino all'interno.

Campbell, Biology.

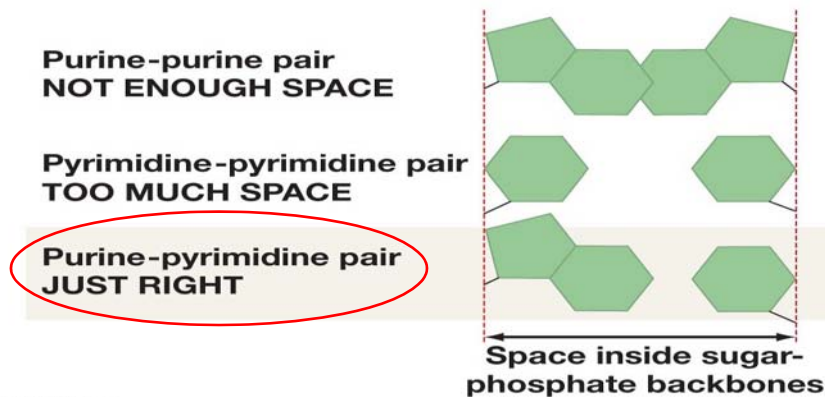
James Watson & Francis Crick



<http://www.achievement.org/autodoc/photocredit/achievers/wat0-013>

Soltanto le coppie purina-pirimidina trovano posto all'interno della doppia elica.

(a) Only purine-pyrimidine pairs fit inside the double helix.



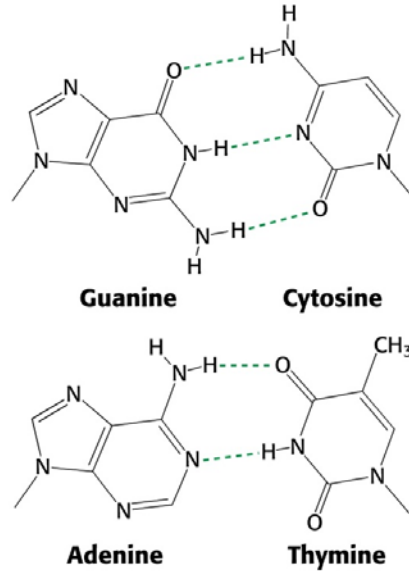
© 2011 Pearson Education, Inc.

<http://www.uic.edu/classes/bios/bios100/lectures/dna.htm>

Coppie di basi complementari riempiono il centro della doppia elica proposta da Watson e Crick (1953)



<http://www.sciencemuseum.org.uk/broughttolife/objects/display?id=6145>



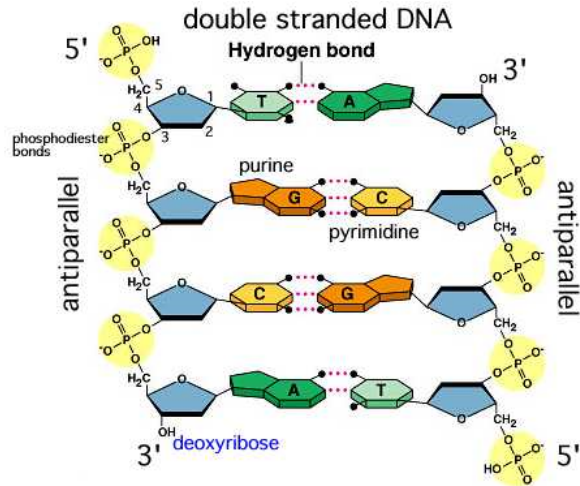
Coppie di basi complementari nella doppia elica del DNA

sugar-phosphate backbone

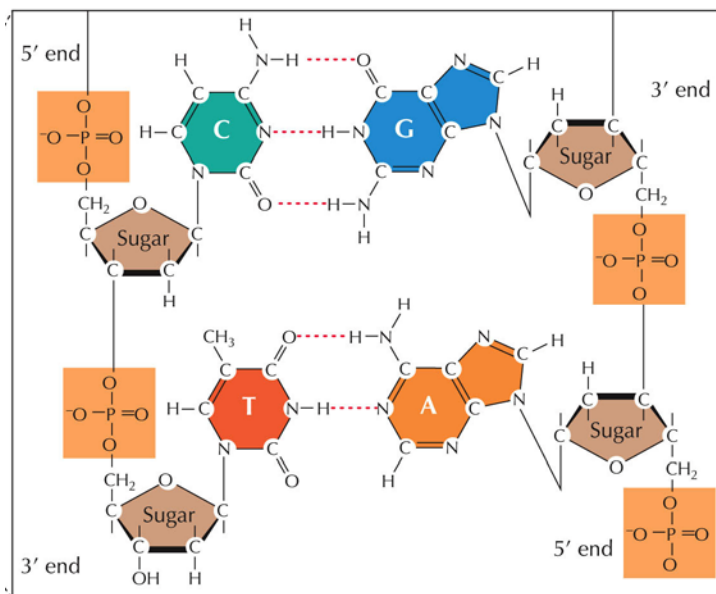
La forma e la struttura chimica delle basi permettono che si formino **legami di idrogeno** efficacemente **soltanto** fra A e T e fra G e C, i cui atomi in grado di formare legami di idrogeno possono essere avvicinati sufficientemente senza dirtorcere la doppia elica. Come indicato, **fra A e T si formano due ponti di idrogeno** mentre **fra G e C se ne formano tre**. Le basi si possono appaiare in questo modo soltanto se le catene polinucleotidiche che le contengono sono **antiparallele** una all'altra.

Figure 4-4. Molecular Biology of the Cell, 4th Edition.

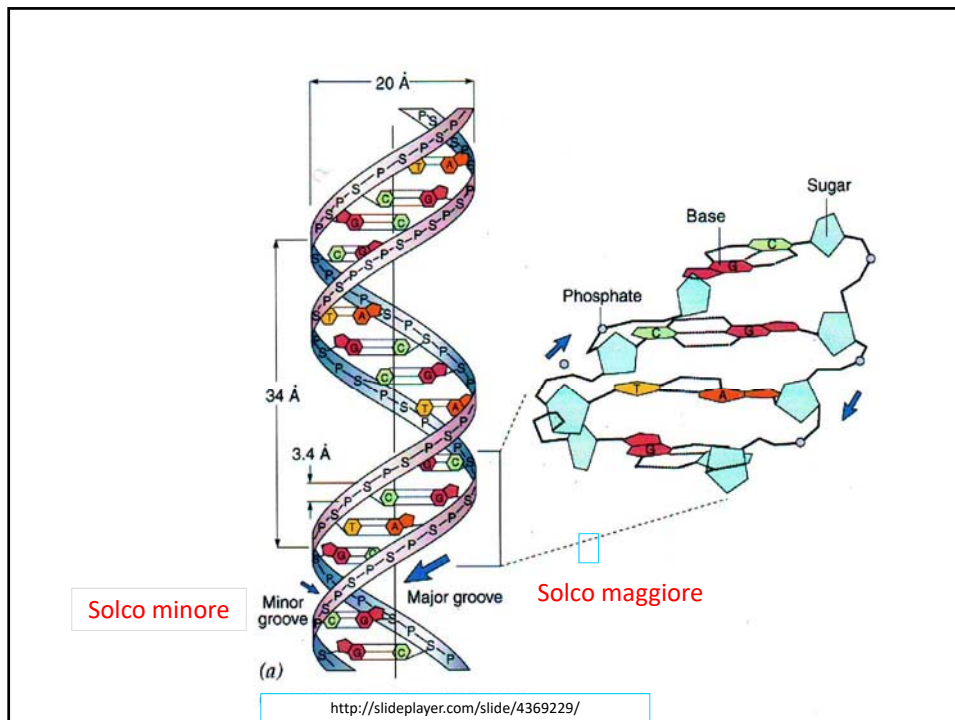
Legami di idrogeno nel DNA



<http://academic.brooklyn.cuny.edu/biology/bio4fv/page/molecular%20biology/dsDNA.jpg>



<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK9944/figure/A428/?report=objectonly>



- ✚ I solchi maggiore e minore si trovano in posizioni opposte uno rispetto all'altro e ciascuno scorre in modo continuo lungo la molecola di DNA.
- ✚ Derivano dalla disposizione antiparallela dei due filamenti.
- ✚ Sono importanti per il **legame** di **"DNA Binding Proteins"** coinvolte nella replicazione e trascrizione.

http://www.mun.ca/biology/scarr/MGA2_02-07.html

Major-groove side

Minor-groove side
Adenine-Thymine

Figure 85.19
Biochemistry of Short Genomes, Second Edition
© 2013 W. H. Freeman and Company

Major-groove side

Minor-groove side
Guanine-Cytosine

<https://s3.amazonaws.com/classconnection/26/flashcards/5881026/png/majorvsminor-1491B850A223B165532.png>

major groove

minor groove

major groove

minor groove

major groove

minor groove

major groove

minor groove

<https://s3.amazonaws.com/classconnection/411/flashcards/6689411/png/majorgroove-14B3C142F353B0EC036.png>

FIGURE 1. Getting into the groove

From the following article:
[Structural biology: DNA binding shapes up](#)
 Tom Tullius
Nature **461**, 1225-1226(29 October 2009)

Seminario

a Major groove Minor groove

b DNA-binding protein

http://www.nature.com/nature/journal/v461/n7268/fig_tab/4611225a_F1.html

Seminario

STRUCTURAL BIOLOGY

DNA binding shapes up

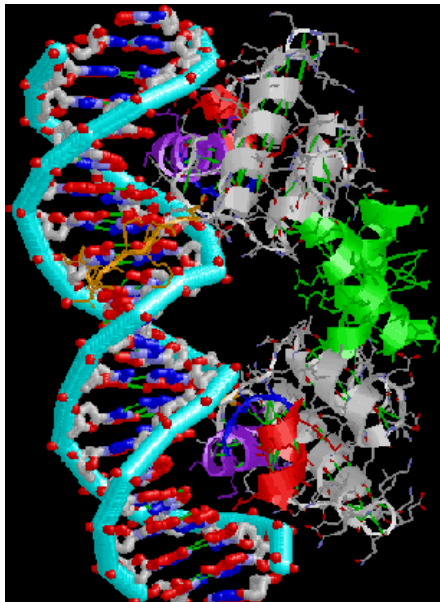
Tom Tullius

DNA-binding proteins have the daunting task of finding their binding sites among the 3 billion base pairs of the human genome. The shape of DNA, and not just its sequence, may offer proteins much-needed direction.

Le **proteine** che **si legano al DNA** hanno il compito estremamente impegnativo di trovare i loro siti di legame fra 3 miliardi di coppie di basi del genoma umano. La **morfologia del DNA** e non soltanto la sua sequenza possono offrire a queste proteine molte delle informazioni necessarie.

Tullius T. Structural biology: DNA binding shapes up. Nature. 2009 Oct 29;461(7268):1225-6.

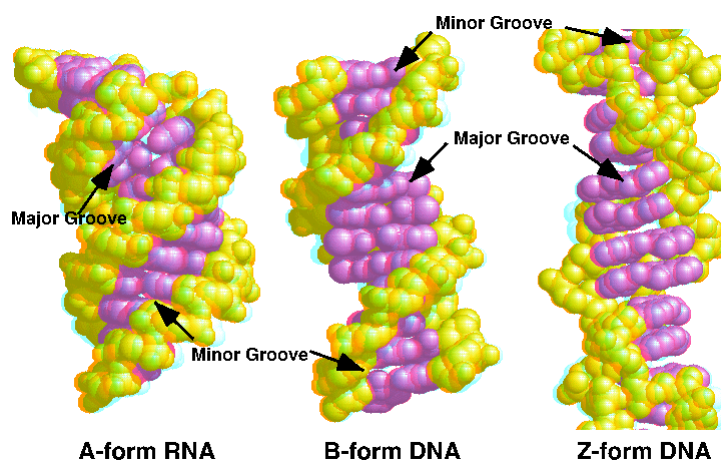
Seminario



Esempio di legame di fattore di trascrizione al DNA

http://www.biochem.umd.edu/biochem/kahn/teach_res/prtn_DNA_tut/

3 tipi di struttura del DNA, dipendenti dal grado di idratazione e concentrazione salina



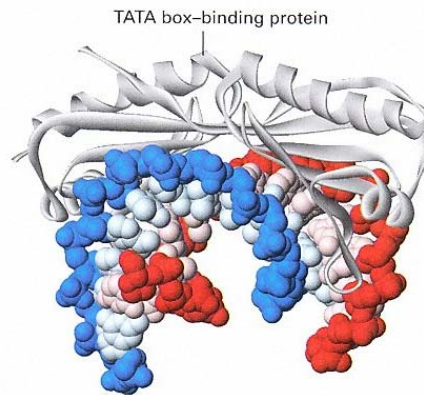
Seminario

<http://www.tulane.edu/~biochem/nolan/lectures/rna/DNAstruc2001.htm>

Seminario

- ✚ Importanti **modificazioni nella struttura** della forma standard B del DNA risultano dal **legame di proteine con sequenze specifiche di DNA**.
- ✚ Nonostante l'elevato numero di legami di idrogeno e idrofobici fra le basi fornisca stabilità al DNA, **la doppia elica è flessibile lungo il suo asse longitudinale**.
- ✚ Al contrario dell' α -elica delle proteine, **non esistono legami di idrogeno paralleli all'asse dell'elica del DNA**.
- ✚ Questa caratteristica permette al DNA di **piegarsi quando complessato con una proteina legante il DNA**.
- ✚ Il ripiegamento del DNA è di fondamentale importanza per l'impacchettamento stretto del DNA nella **cromatina**, il complesso DNA-proteina in cui si trova il DNA nucleare degli eucarioti.

Lodish, 7° ed.

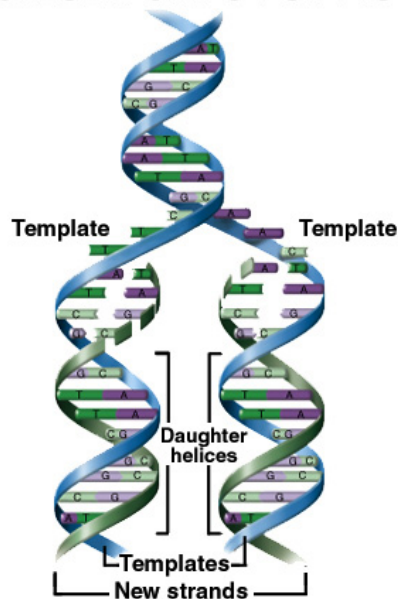


Le interazioni proteiche possono ripiegare il DNA. Il dominio C-terminale conservato della «TATA-box binding protein» (TBP) si lega al solco minore di una sequenza specifica di DNA ricca in A e T, svolgendo e fortemente ripiegando la doppia elica. La trascrizione della maggior parte dei geni eucariotici richiede la partecipazione di TBP.

Lodish, 7° ed.

DNA replication: an overview

1. Original double helix
2. Strands separate
3. Complementary bases align opposite templates
4. Enzymes link sugar-phosphate elements of aligned nucleotides into a continuous new strand



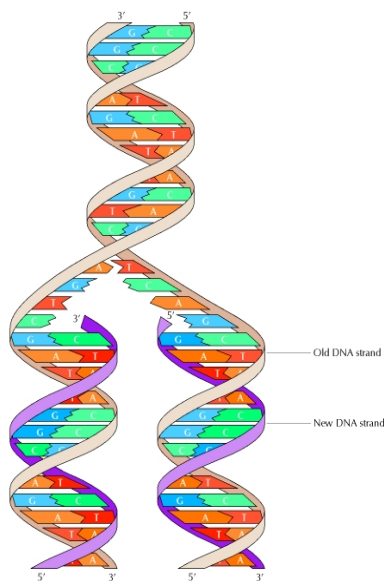
... una modesta proposta...

It has not escaped our notice that the specific pairing we have postulated immediately suggests a possible copying mechanism for the genetic material."

-Watson & Crick, "A Structure for Deoxyribose Nucleic Acid," *Nature* 1953.

"Non è sfuggito alla nostra attenzione che l'appaiamento specifico che abbiamo postulato suggerisce immediatamente un possibile meccanismo di copiatura per il materiale genetico"

Replicazione semiconservativa del DNA.



<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK9944/figure/A430/>

- ✚ Prima che inizi la replicazione, **i due filamenti complementari della doppia elica debbono separarsi**, formando filamenti singoli.
- ✚ Una volta separati questi filamenti fungono da stampo («template») per copiare i nuovi filamenti di DNA.
- ✚ Alla fine di questo processo, si formano due nuove doppie eliche.
- ✚ Ogni elica contiene **un filamento di DNA originario** (parentale) e **un filamento di nuova sintesi**; da qui il termine **semi-conservativa**.

Seminario: Corso di Genetica

REPLICAZIONE DEL DNA

<http://www.yourgenome.org/facts/what-is-dna-replication>

Seminario

Tutte le **DNA polimerasi** aggiungono un desossiribonucleotide 5'-trifosfato al gruppo 3'-idrossilico (-OH) di una catena in crescita del DNA (filamento guida; "leading strand").

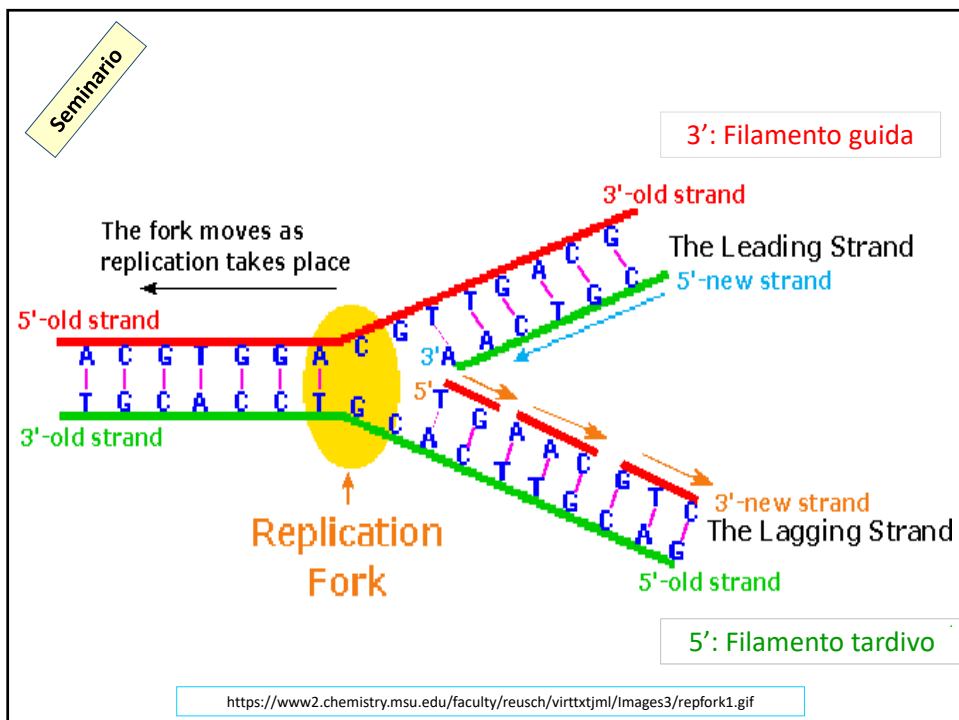
https://online.science.psu.edu/biol141_wc/node/7520

Seminar

DNA polimerasi

- Tutti le DNA polimerasi note condividono due proprietà fondamentali che hanno implicazioni critiche per la replicazione del DNA:
- Tutte le polimerasi **sintetizzano il DNA soltanto nella direzione 5' a 3'**, aggiungendo un desossinucleoside trifosfato (dNTP) al gruppo idrossilico della catena in crescita.
- Le DNA polimerasi **possono aggiungere un nuovo dNTP soltanto ad un "primer" (innesco) preformato che è legato mediante ponti di idrogeno al filamento stampo; non** sono in grado di iniziare la sintesi del DNA *de novo* catalizzando la polimerizzazione di dNTPs liberi.
 - Da questo punto di vista, **le DNA polimerasi differiscono dalle RNA polimerasi**, che possono iniziare la sintesi di un nuovo filamento di RNA in assenza di un primer.

Seminar



Seminaro

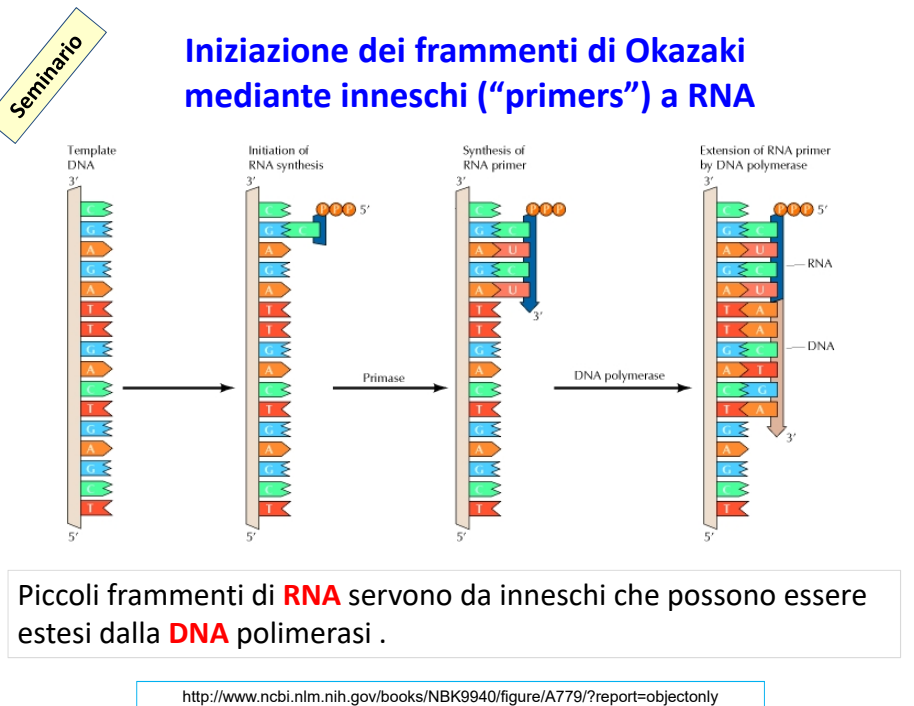
Ad ogni forcella di replicazione, uno dei due filamenti è sintetizzato mediante più inneschi.

(a) La struttura completa della forcella di replicazione: La sintesi del **filamento guida**, catalizzata dalla **DNA polimerasi III**, si attua per aggiunta sequenziale di deossiribonucleotidi nella stessa direzione di spostamento della forcella di replicazione.

(b) Passaggi della sintesi discontinua del **filamento tardivo**: Questo processo richiede **numerosi inneschi**, **due DNA polimerasi** e una **ligasi**, che unisce l'estremità 3' idrossile di un frammento (**frammento di Okazaki**) con l'estremità 5'-fosfato del frammento adiacente.

(c) Giunzione fra i frammenti di DNA: Durante questa reazione, la ligasi si lega momentaneamente ed in modo covalente all'estremità 5'-fosfato di un filamento di DNA, attivandone così il gruppo fosfato. La DNA ligasi di *E. coli* usa come cofattore il NAD^+ , generando NMN e AMP, mentre la ligasi del batteriofago T4, normalmente usata nel clonaggio del DNA, usa ATP, generando PPi e AMP.

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK21751/figure/A3196/?report=objectonly>



Seminarario

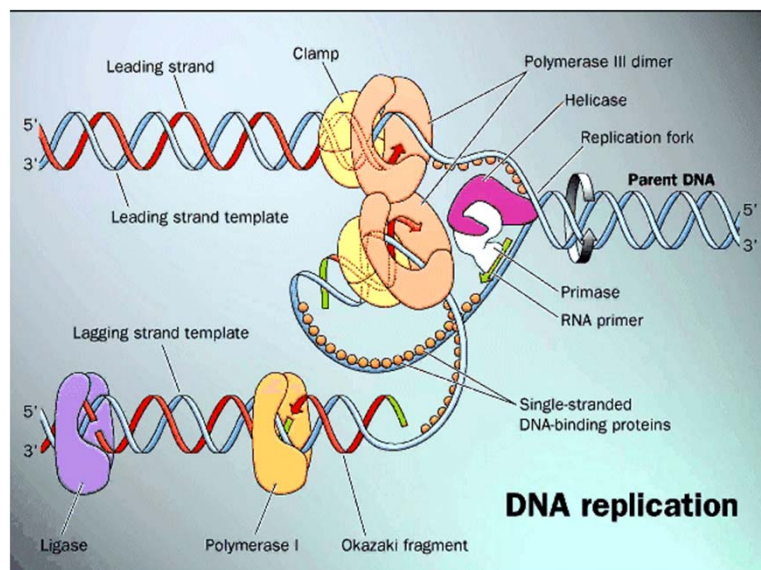
Replicazione del DNA – enzimi coinvolti

Una volta che il DNA a doppio filamento è esposto, entra in azione un gruppo di enzimi che procede alla sua replicazione:

- ✿ **TOPOISOMERASI**: inizia lo svolgimento della doppia elica tagliando uno dei filamenti.
- ✿ **ELICASI**: collabora allo svolgimento. Ricordare che molti legami di idrogeno debbono essere rotti se i filamenti si devono separare.
- ✿ **SSB**: una “Single-Strand Binding-protein” (proteina che si lega al filamento singolo) stabilizza i filamenti separati ed impedisce ad essi di ricombinarsi, in modo che la polimerizzazione possa funzionare sui filamenti singoli.
- ✿ **DNA POLIMERASI**: famiglia di enzimi che collega monomeri di nucleotidi trifosfato mentre si legano mediante ponti di idrogeno alle basi complementari. Questi enzimi inoltre cercano degli eventuali errori (circa dieci per bilione) e fanno le correzioni.
- ✿ **LIGASI**: unisce piccoli segmenti scollegati di DNA su un filamento unico.

Seminarario

Replicazione del DNA



Seminario: trattato
a Genetica

DNA primasi – [1]

- ✚ Enzima coinvolto nella replicazione del DNA; è un tipo di RNA polimerasi.
- ✚ Catalizza la sintesi di un corto segmento di RNA chiamato un “primer” (innesco), complementare ad un filamento stampo del DNA (“single strand DNA”, ssDNA).
- ✚ Svolge un ruolo di grande importanza nella replicazione del DNA dato che nessuna nota DNA polimerasi replicativa può iniziare la sintesi di un filamento di DNA senza un primer iniziale di RNA (per l’elongamento temporaneo del DNA).
- ✚ Dopo questo elongamento, la porzione di RNA viene rimossa da una 5’-3’ esonucleasi e riempita con DNA.

<https://en.wikipedia.org/wiki/Primase>

Seminario: trattato
a Genetica

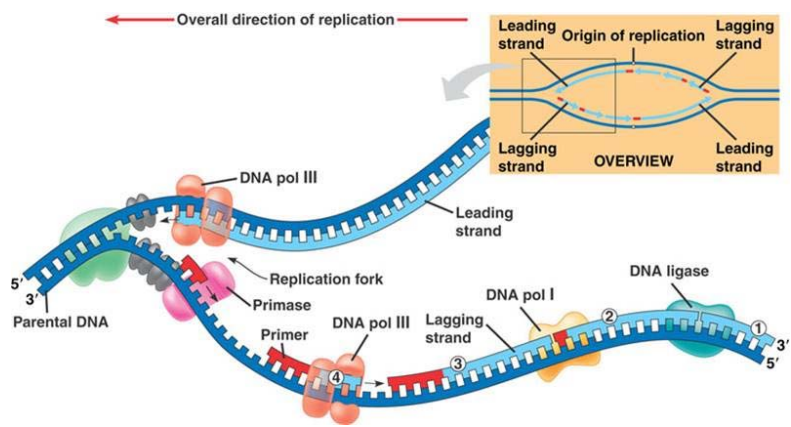
DNA primasi – [1]

- ✚ Enzima coinvolto nella replicazione del DNA; è un tipo di RNA polimerasi.
- ✚ Catalizza la sintesi di un corto segmento di RNA chiamato un “primer” (innesco), complementare ad un filamento stampo del DNA (“single strand DNA”, ssDNA).
- ✚ Svolge un ruolo di grande importanza nella replicazione del DNA dato che nessuna nota DNA polimerasi replicativa può iniziare la sintesi di un filamento di DNA senza un primer iniziale di RNA (per l’elongamento temporaneo del DNA).
- ✚ Dopo questo elongamento, la porzione di RNA viene rimossa da una 5’-3’ esonucleasi e riempita con DNA.

<https://en.wikipedia.org/wiki/Primase>

Seminario: trattato a Genetica

DNA primasi - [3]



https://www.researchgate.net/post/Why_cant_DNA_polymerase_attach_things_to_the_5_end_of_a_strand_of_DNA