

## BIOLOGIA MOLECOLARE ~ LEZIONE 2 – 09/03/2023

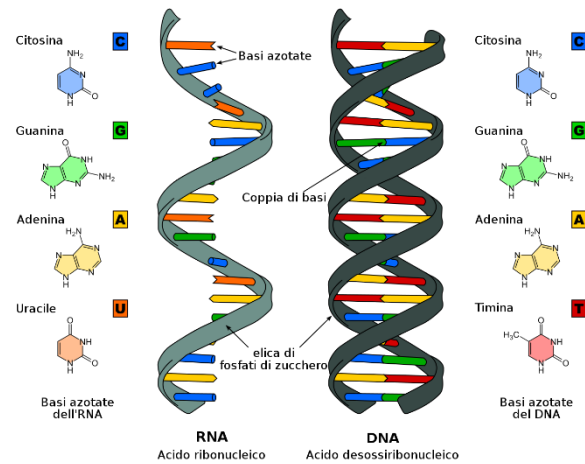
Gli acidi nucleici, DNA e RNA, sono polinucleotidi, ossia bio-polimeri di nucleotidi ognuno formato da tre parti:

- uno zucchero C5 (ribosio o desossiribosio)
- un gruppo fosfato
- una base azotata

[L' OH nel ribosio, in posizione 2, influenza la struttura e la stabilità e ne impedisce anche la formazione del doppio filamento]

### BASI AZOTATE:

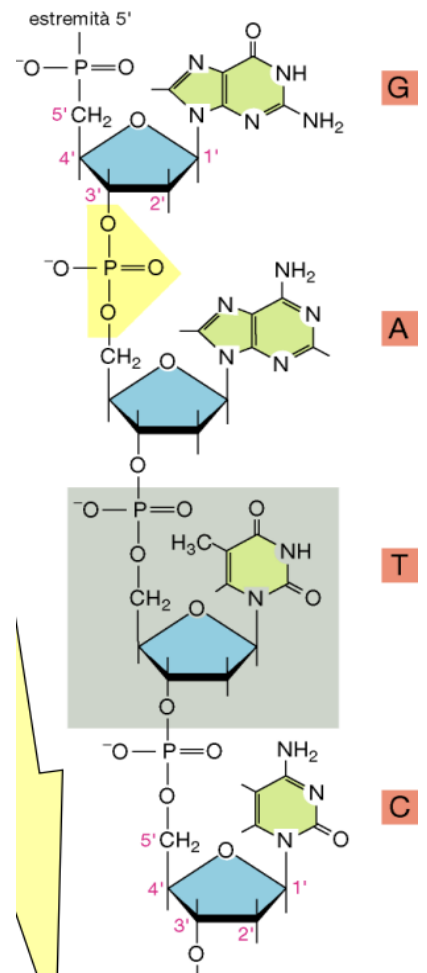
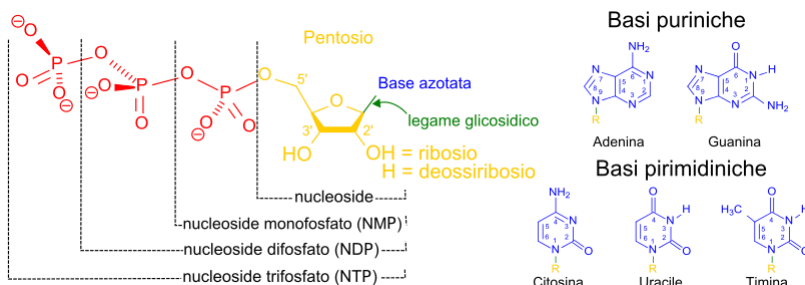
- PURINE (doppio anello): adenina e guanina
- PIRIMIDINE (singolo anello): timina, citosina e guanina



### REGOLE DI CHARGAFF (1950):

- Nel DNA di specie diverse c'è proporzionalità nella composizione in basi azotate
- La concentrazione di A è uguale a quella di T e la concentrazione di C è uguale a quella di G
- La quantità delle basi puriniche è uguale a quella delle basi pirimidiniche
- La composizione in basi del DNA varia tra specie diverse

La base azotata si lega allo zucchero e si forma il NUCLEOSIDE (legati dal legame N-glicosidico). Aggiungendo un gruppo fosfato otteniamo un NUCLEOTIDE. [I nucleosidi prendono il nome dalla base azotata e dallo zucchero]. Mediante **reazione di condensazione** si formano i polimeri. I polimeri sono legati in posizione 5'-3' con **legami fosfodiesterici**. La sequenza è sempre letta da 5'-3' e avremo un gruppo fosfato in posizione 5' e un OH libero in posizione 3'. La catena polinucleotidica ha una struttura ripetitiva formata dall'alternarsi di zuccheri e fosfati, all'esterno sporgono le basi azotate.



#### CLASSI DI ACIDI NUCLEICI:

- DNA: doppio filamento, desossiribosio, timina
- RNA: singolo filamento, ribosio, uracile

#### DNA:

- Due catene interconnesse
- Coppie di basi: AT e CG

La molecola del DNA ha la forma di una doppia elica. L'appaiamento complementare delle basi azotate suggerisce che il DNA sia una molecola a doppio filamento, simile ad una scala a pioli avvolta a formare una spirale.

#### APPAIAMENTO COMPLEMENTARE DELLE BASI:

- AT → tramite 2 legami a idrogeno
- CG → tramite 3 legami a idrogeno

Le due catene dell'elica sono COMPLEMENTARI e ANTIPARALLELE (infatti hanno una polarità opposta). Un filamento va in direzione 5'-3', l'altro in direzione 3'-5'. La doppia elica di DNA è destrorsa (gira in senso orario).

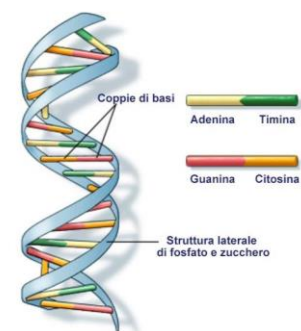
1 giro di elica = 34 Å = 10,5 paia di basi (lunghezza)

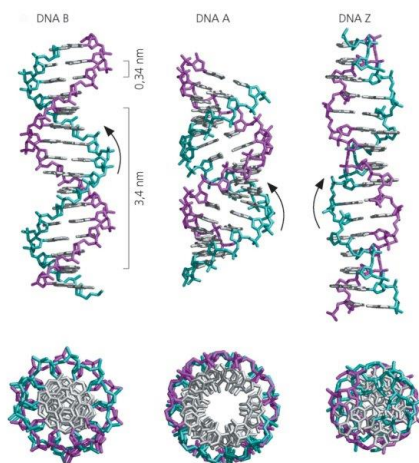
2Å (2nm) (Larghezza)

Le proteine interagiscono generalmente con il solco maggiore del DNA. Le basi non sono perfettamente parallele ma sono "ruotate". Le alterazioni al parallelismo delle basi sono descritte da alcuni parametri: Twist, Roll e Tilt. La doppia elica è stabilizzata dall'appaiamento tra le basi e dal loro impilamento. Il triplo legame GC è più stabile del doppio legame AT.

#### ELEMENTI CHIAVE DEL DNA:

- Doppio filamento
- Elica destrorsa
- Filamenti antiparalleli
- Le basi sono all'interno dell'elica, perpendicolari all'asse dell'elica e formano coppie di basi complementari





### STRUTTURE ALTERNATIVE DEL DNA:

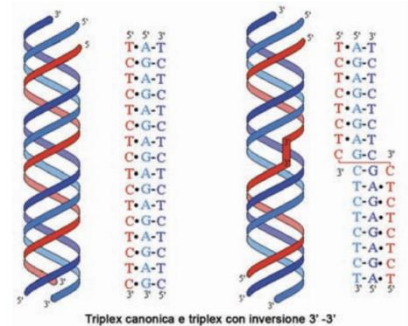
- DNA B → Il più stabile, elica destrorsa, 10,5 paia di basi, diametro 20Å, è presente un solco maggiore e uno minore.
- DNA A → Lo riscontriamo in condizioni di bassa umidità, 11 paia di basi, elica destrorsa, solco minore più profondo, solco maggiore più stretto.
- DNA Z → Tipica di sequenze che presentano modificazioni, lo riscontriamo in presenza di specifiche sequenze (alternanza C e G), 12 coppie di basi.

Conformazione ANTI → tipiche delle forme destrorse A e B

Conformazione SYN → tipiche della forma sinistrorsa Z (zig-zag)

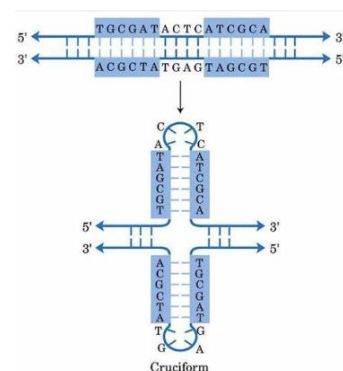
### ALTRE STRUTTURE PARTICOLARI:

- **DNA a tripla elica** → Se abbiamo una parte della catena con sole pirimidine e di conseguenza l'altra avrà purine si può formare un'altra catena contenente pirimidine e quindi formare una tripla elica. La terza catena avrà polarità uguale alla sequenza della doppia elica (uguale a quella della purina).



- **Quartetti di G (Tetraplex G)** → Si forma tra quattro tratti di DNA o RNA singolo filamento che contengono ciascuno tre o più G consecutive. I telomeri, che hanno tanti segmenti ricchi di G, hanno una certa propensione a formare questa struttura.

- **Struttura cruciforme** → Si forma quando sono presenti a breve distanza due coppie della stessa sequenza in orientamento opposto (palindromi).



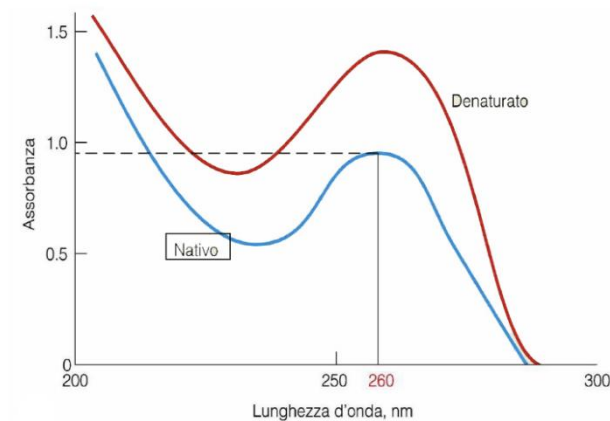
- **Struttura a forcine** → Per RNA (o DNA) a singolo filamento con la stessa sequenza di uno dei due filamenti dei duplex.
- **DNA curvo (o piegato)** → Alcune coppie di base adiacenti, non essendo perfettamente parallele, introducono piccoli piegamenti della molecola duplex.

## Proprietà termiche del DNA: DENATURAZIONE e RINATURAZIONE

- La denaturazione è reversibile ed è il processo per cui l'acido desossiribonucleico a doppio filamento si svolge e si separa in due filamenti singoli rompendo i legami idrogeno tra le basi appaiate
- La rinaturazione è un processo la cui velocità è estremamente variabile e permette il ritorno del DNA al proprio stato nativo.

Temperatura di melting ( $T_m$ ) è definita come la temperatura media a cui viene denaturato un determinato filamento di DNA. Abbassando nuovamente la temperatura, i due filamenti si riuniranno tornando nella forma in cui erano in origine, per questo si dice che il processo è reversibile. La temperatura di melting dipende sia dalla lunghezza totale della molecola di DNA, sia dalla specifica sequenza dei nucleotidi. Una molecola di DNA ricca di GC ha un  $T_m$  maggiore di una molecola di DNA ricca di AT (a causa dei legami). Quindi la  $T_m$  non è uguale per tutte le molecole di DNA ma dipende dal contenuto di AT-CG e dalla dimensione delle molecole.

### SPETTRO DI RIASSORBIMENTO DEL DNA E IL FENOMENO DELL'IPERCROMISMO:



Il DNA doppio filamento assorbe la luce ultravioletta con un picco a 260 nm. Il DNA denaturato anche ma è maggiore l'assorbanza. Questo effetto viene chiamato IPERCROMISMO.