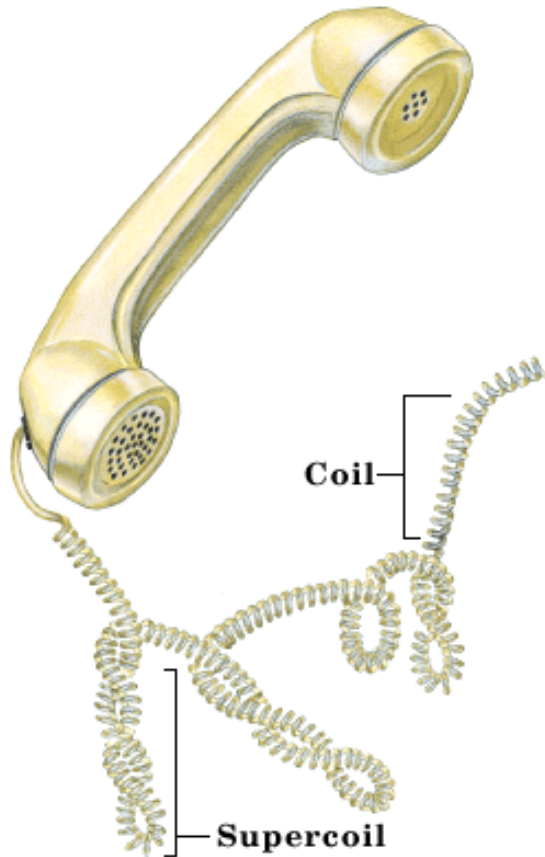
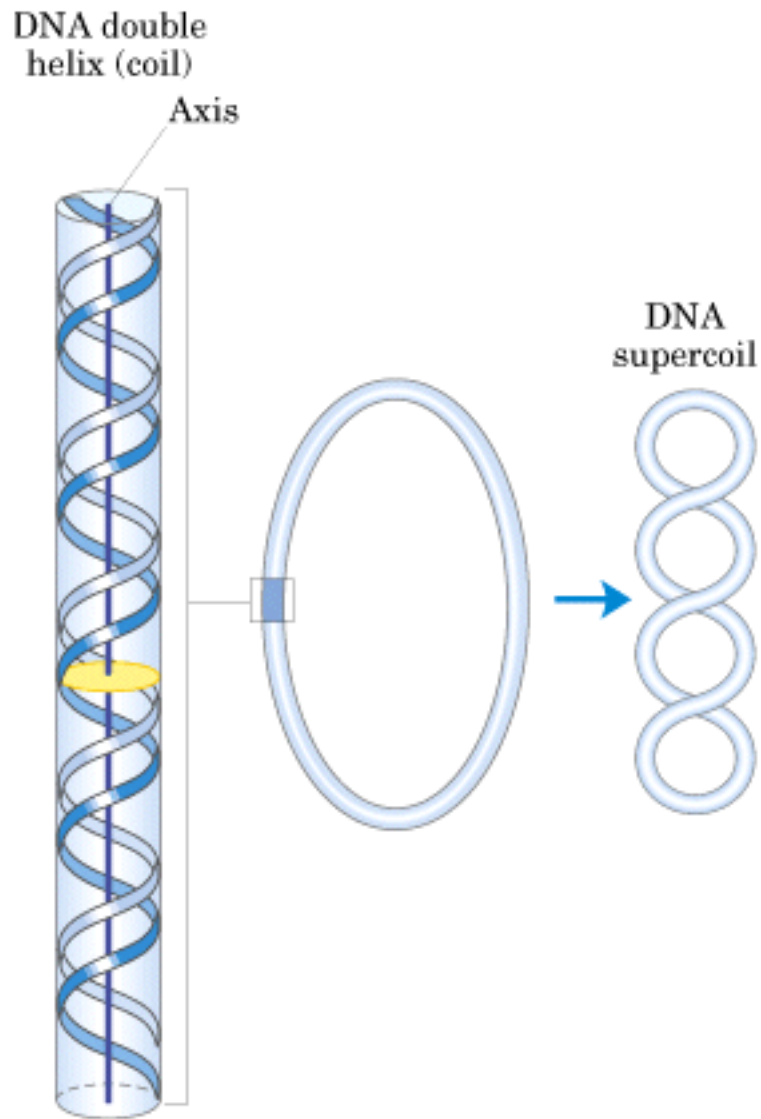


IL SUPERAVVOLGIMENTO DEL DNA



Il DNA è avvolto in forma di doppia elica, nella quale entrambe ruotano attorno ad un asse. Un ulteriore ripiegamento o una torsione di tale asse su se stesso producono un ***superavvolgimento*** del DNA.

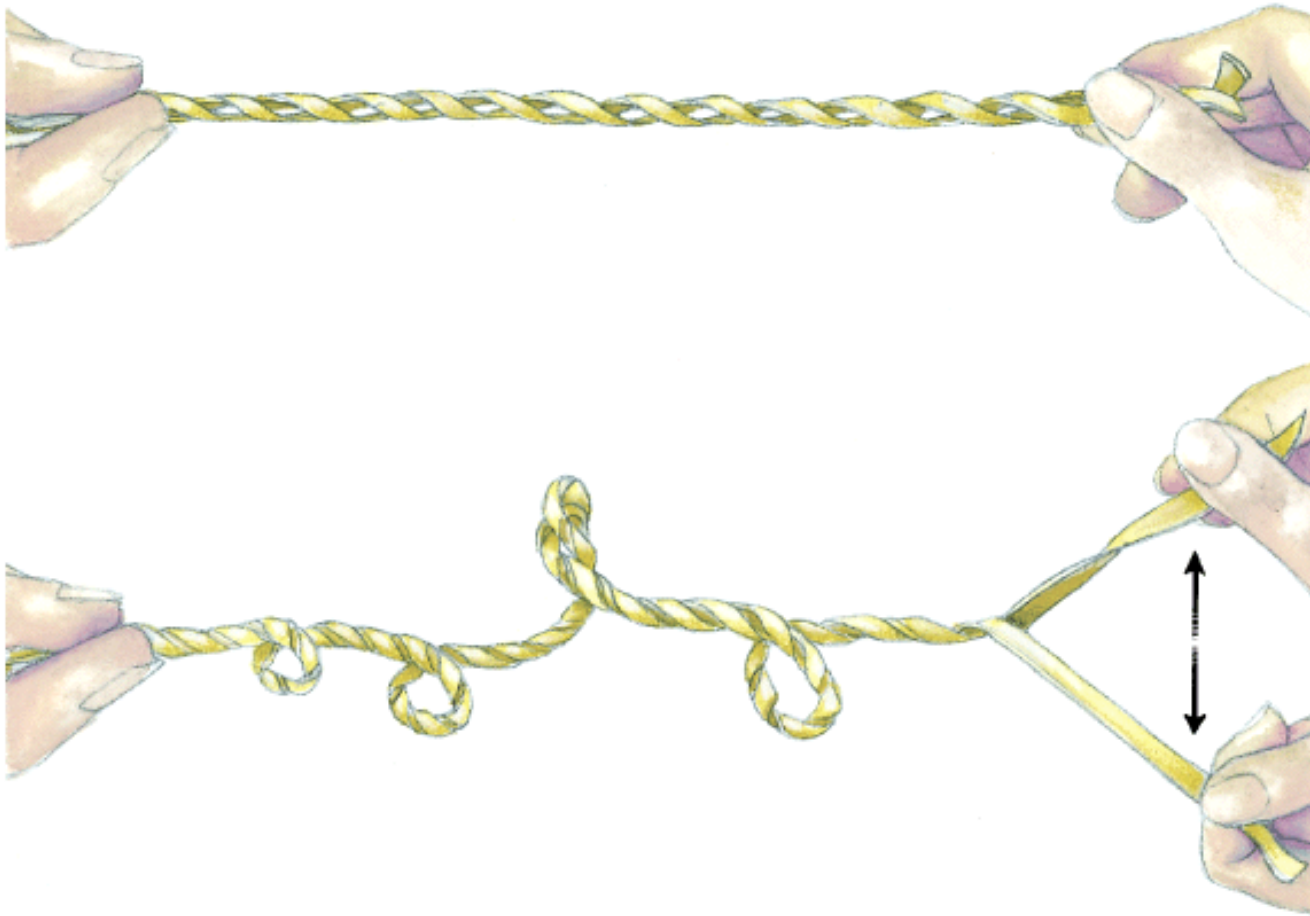
Il superavvolgimento del DNA è, in genere, una manifestazione della tensione strutturale, mentre se non esiste alcun ripiegamento si dice che il DNA si trova in uno ***stato rilassato***.



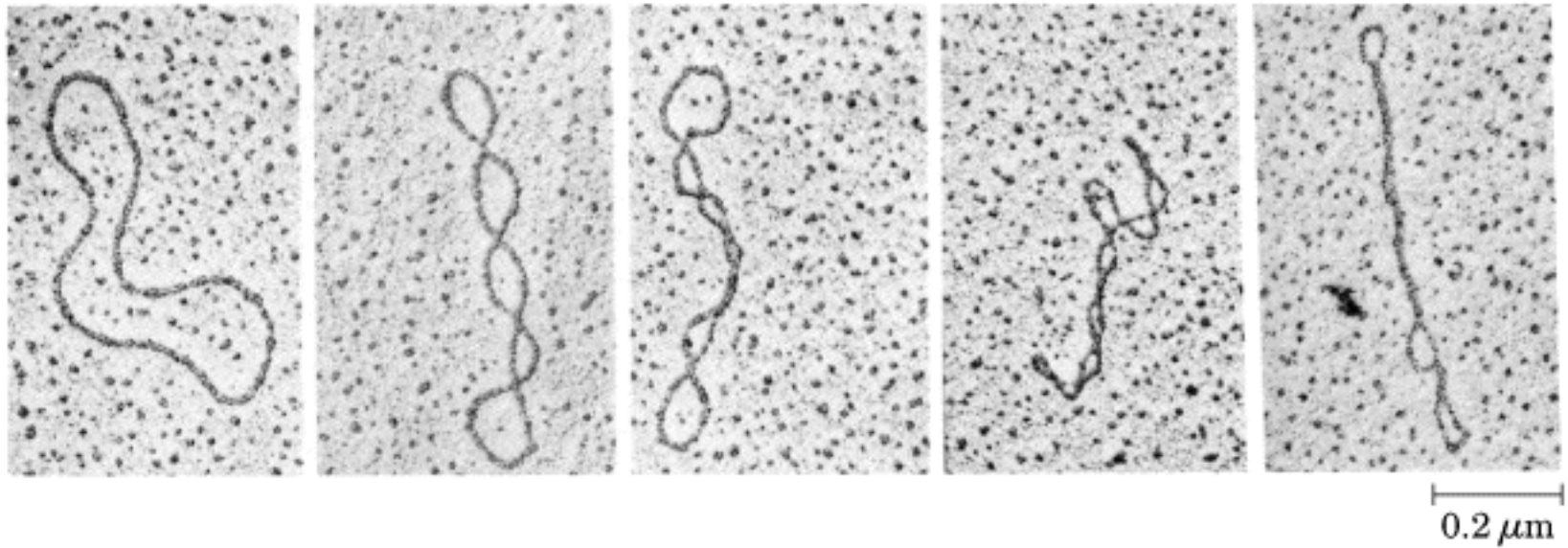
Quando l'asse del DNA a doppia elica si riavvolge su se stesso si forma una nuova elica (superelica).

Il DNA superelica viene denominato "superavvolto".

*Superavvolgimento prodotto dalla separazione (rottura)
delle catene di una struttura a doppia elica*

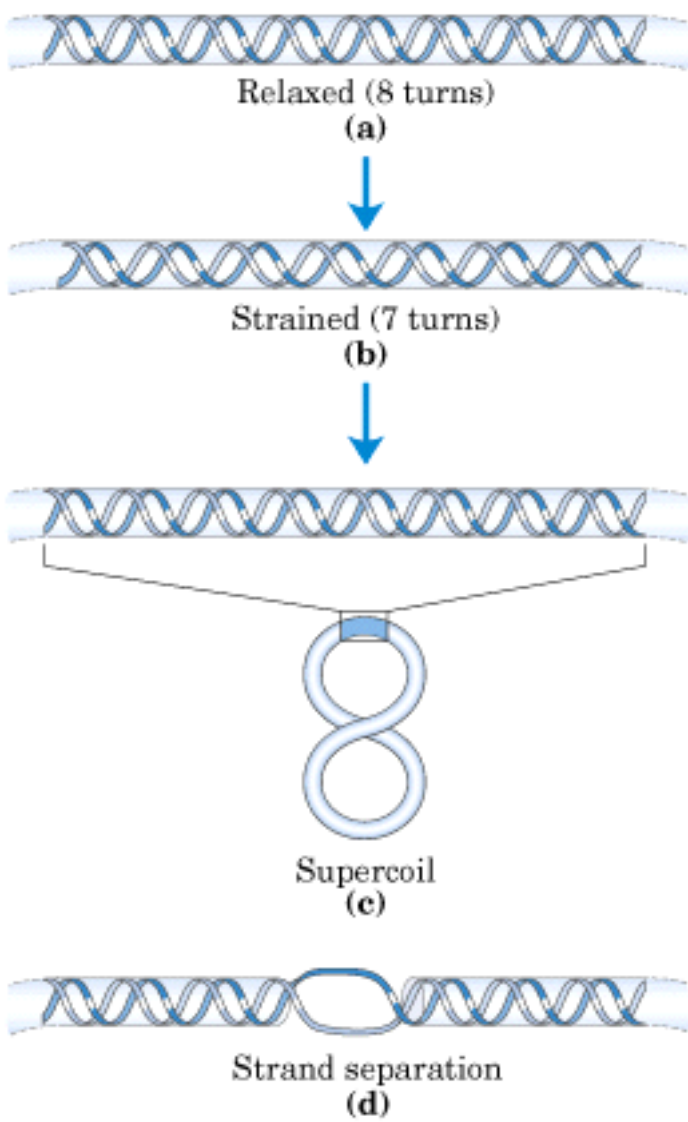


*Immagini al microscopio elettronico di DNA plasmidici
rilassati e superavvolti*



Il grado di superavvolgimento aumenta andando da sinistra a destra

Effetti del parziale disavvolgimento del DNA



Numerose osservazioni suggeriscono che la struttura del DNA è sottoposta ad una tensione tale da indurre un superavvolgimento.

La deformazione del DNA circolare a doppia elica viene invece definita **disavvolgimento**.

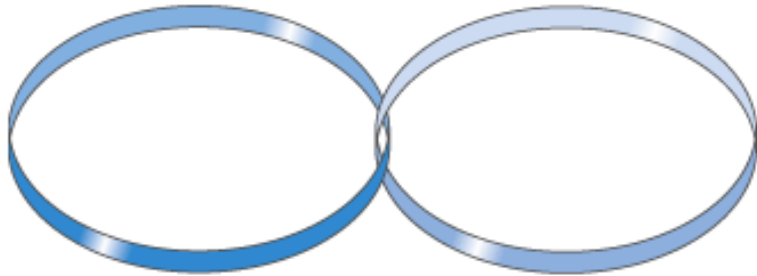
(A) Se il DNA circolare a fianco, costituito da 84 bp, fosse rilassato, tale segmento conterrebbe 8 giri di doppia elica (uno ogni 10.5 bp, $84/8$)

(B) La rimozione di un giro produce una deformazione strutturale, per cui per ogni giro vi sono 12 bp ($84/7$).

(C) Questa deformazione viene riequilibrata dal superavvolgimento della struttura.

(D) Il disavvolgimento del DNA rende anche più facile la separazione dei due filamenti.

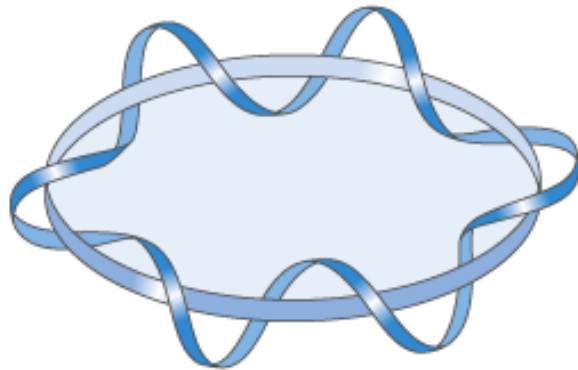
*Il DNA disavvolto è definito matematicamente
mediante un numero di legame, Lk (linking number)*



$Lk = 1$
(a)

Lk : è il numero di volte che la seconda catena ruota attorno alla prima perforandone la superficie immaginaria.

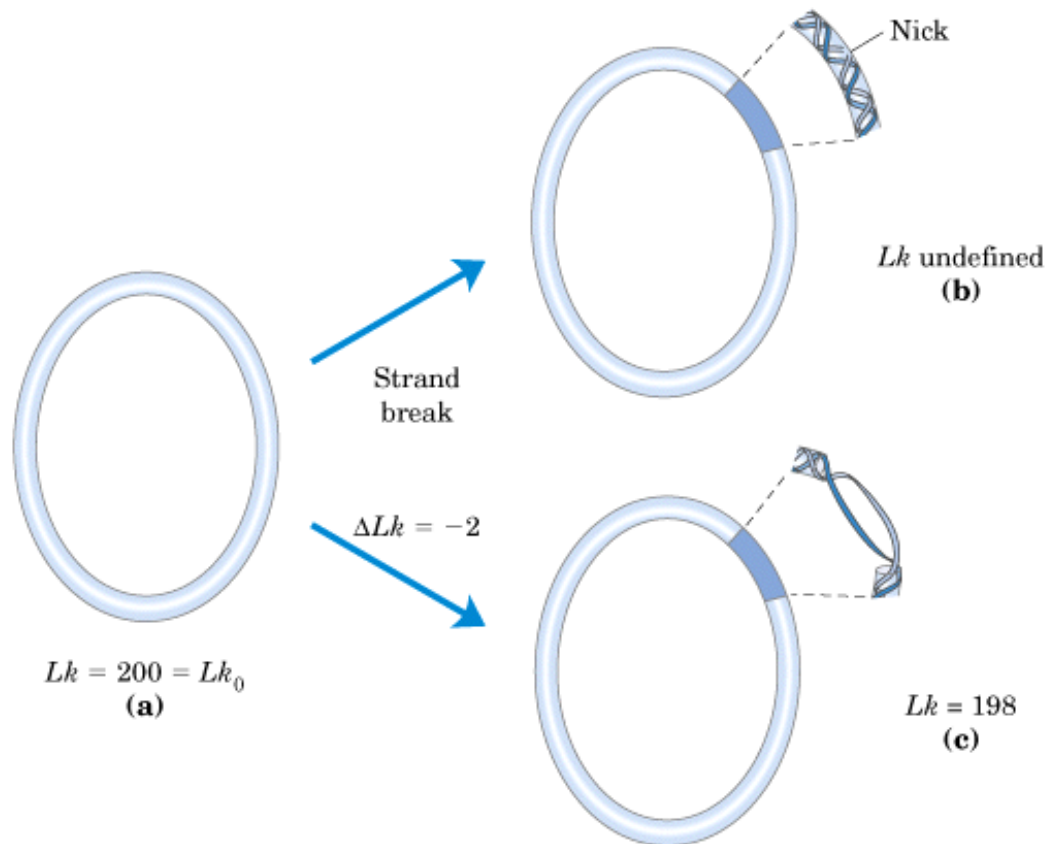
Per la molecola raffigurata in (a), $Lk = 1$.



$Lk = 6$
(b)

Per la molecola raffigurata in (b), $Lk = 6$.

Numero di legame applicato a molecole di DNA circolare chiuso



Un DNA circolare di 2100 bp viene raffigurato in tre forme:

- (a) rilassata, $Lk = 200 = Lk_0$ (2100/10.5)
- (b) rilassata con interruzione di catena, Lk indefinito
- (c) Parzialmente disavvolta di 2 giri, $Lk = 198$

La variazione viene descritta dall'equazione

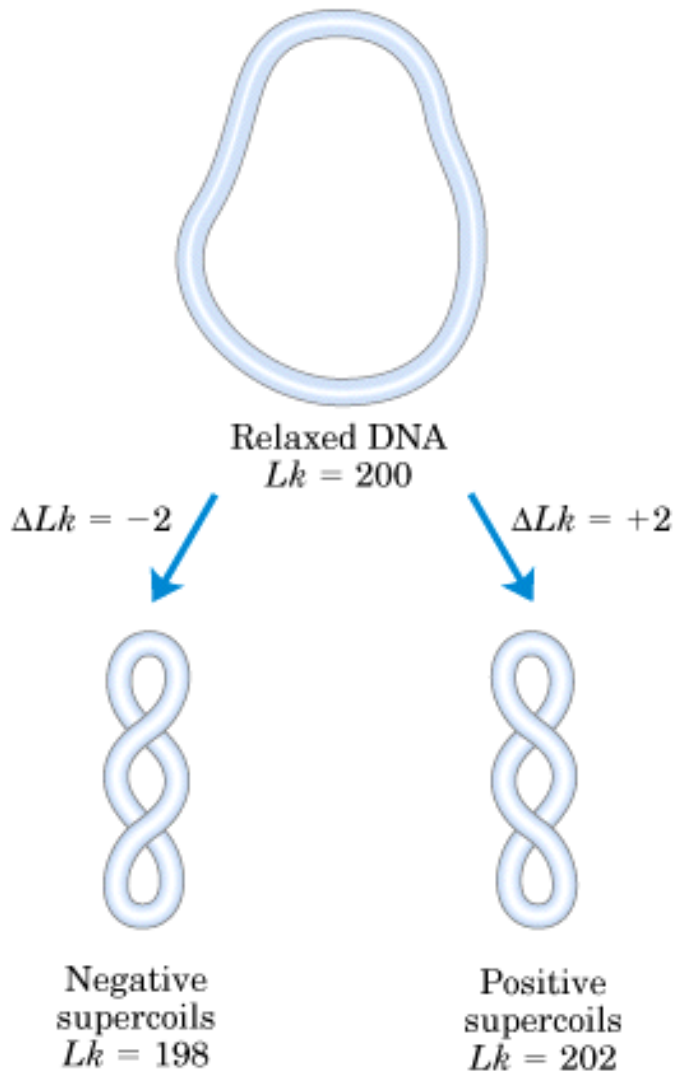
$$\Delta Lk = Lk - Lk_0 = 198 - 200 = -2$$

Differenza di legame specifica (o densità della superelica)

$$\sigma = \Delta Lk / Lk_0$$

Numero di giri eliminati rispetto a quelli presenti nel DNA rilassato

Superavvolgimenti negativi e positivi

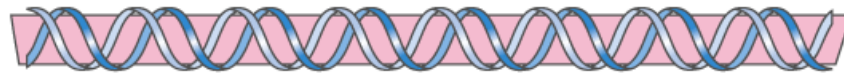


Il parziale disavvolgimento o l'iperavvolgimento di due giri d'elica ($Lk = 198$ o 202) della molecola di DNA qui rappresentata, produrranno rispettivamente un superavvolgimento negativo o positivo.

La torsione dell'asse del DNA è di segno opposto.

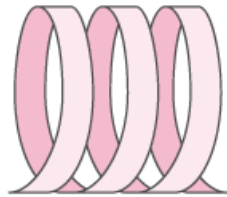
Due forme di DNA circolare che differiscono esclusivamente per il numero di legame sono definite *topoisomeri*.

Modello nastriforme per illustrare Torsione ed Avvolgimento



Straight ribbon (relaxed DNA)

(a)



Large writhe, small change in twist

(b)



Zero writhe, large change in twist

(c)

Il n.ro di legame può essere scomposto in due componenti strutturali:

- Avvolgimento (W_r , writhe)
- Torsione (Twist)

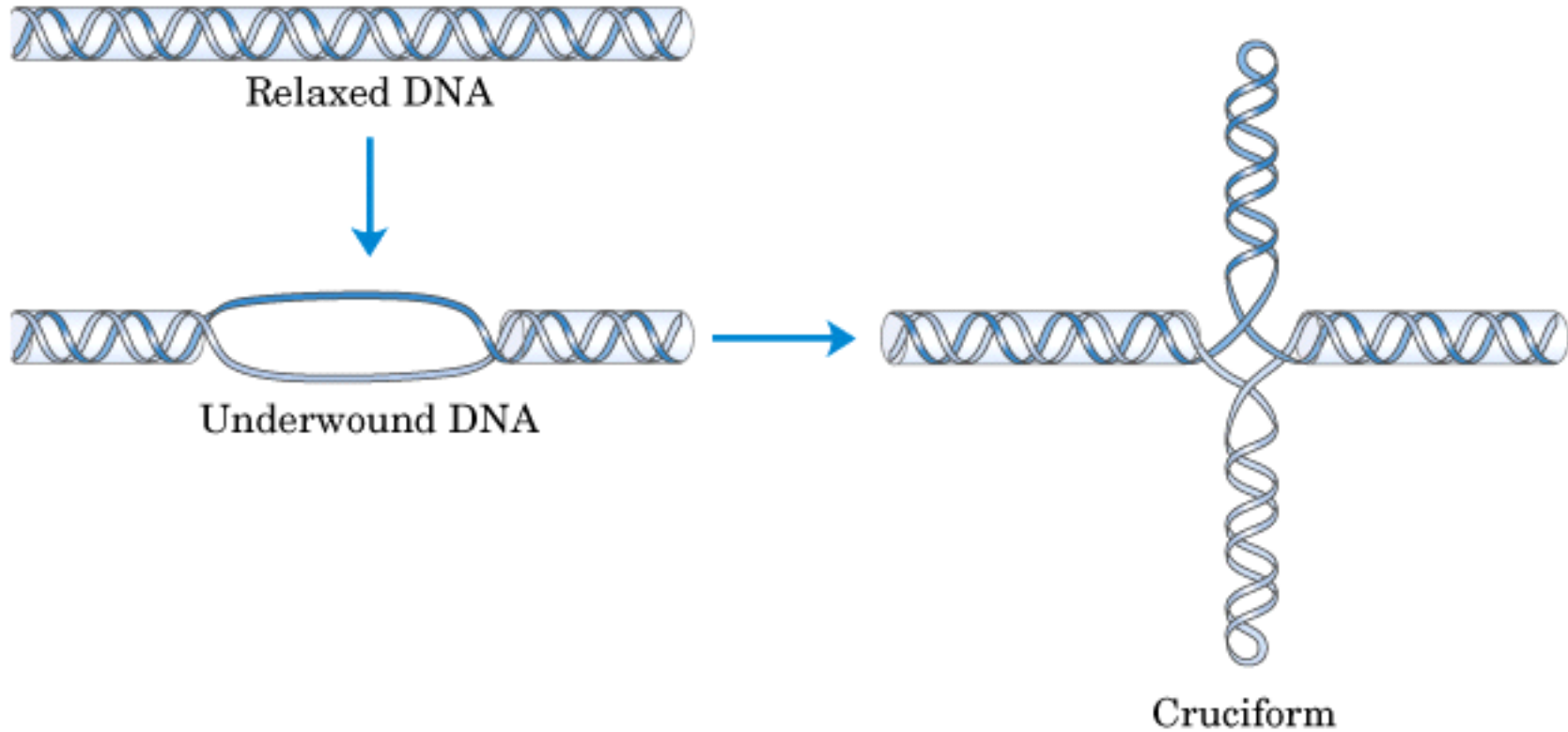
$$Lk = Tw + Wr$$

(A): asse di una molecola di DNA rilassata

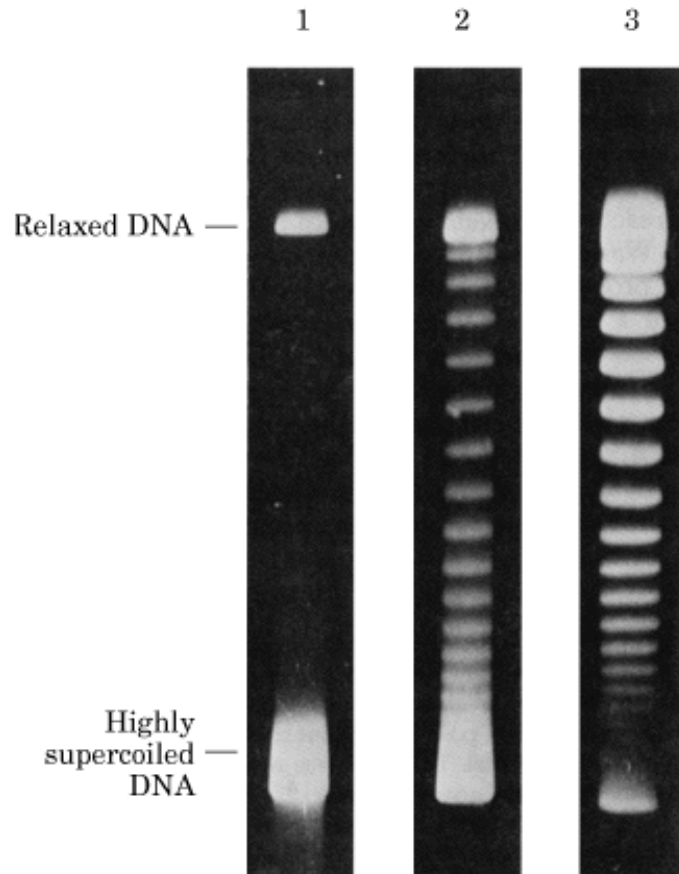
(B): una modesta torsione provoca un grosso avvolgimento

(C): una grossa torsione non modifica l'avvolgimento della catena di DNA.

*Il parziale disavvolgimento del DNA induce
la formazione di strutture cruciformi*



Le Topoisomerasi catalizzano le variazioni del numero di legame del DNA



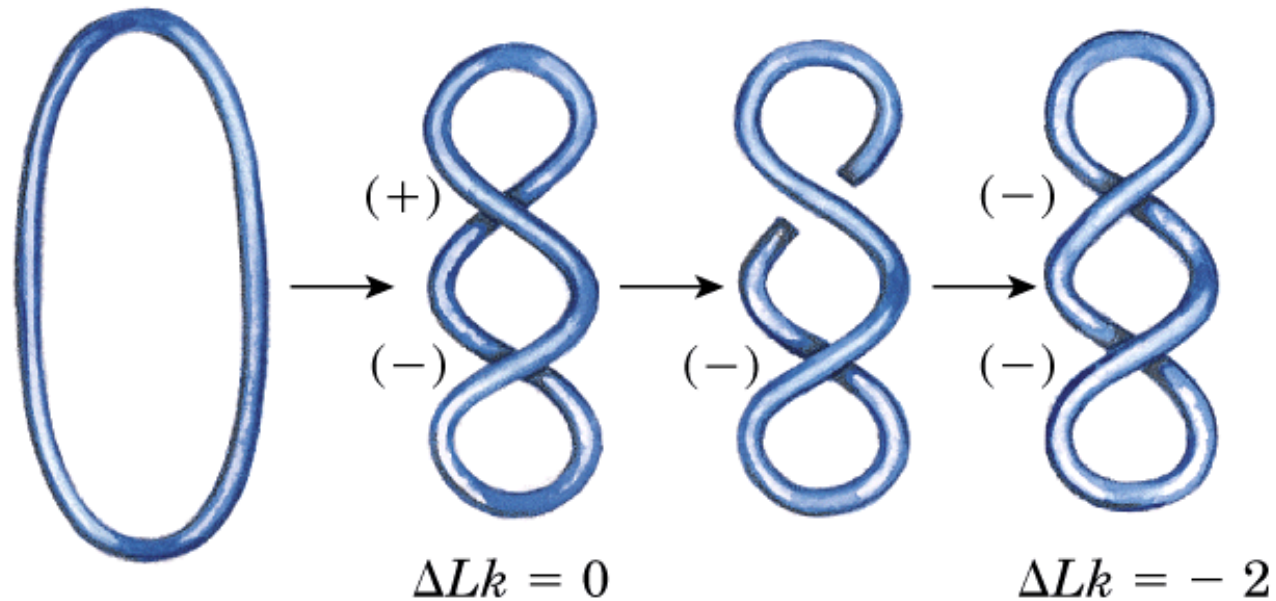
TOPOISOMERASI: enzimi che determinano l'aumento o la diminuzione del grado di disavvolgimento del DNA.

Topoisomerasi I: rompono transitoriamente una delle due catene del DNA, ruotando un'estremità attorno alla catena integra e riunendo le estremità interrotte (modificano Lk con incrementi di 1)

Topoisomerasi II: rompono entrambe le catene del DNA e modificano Lk con incrementi di 2.

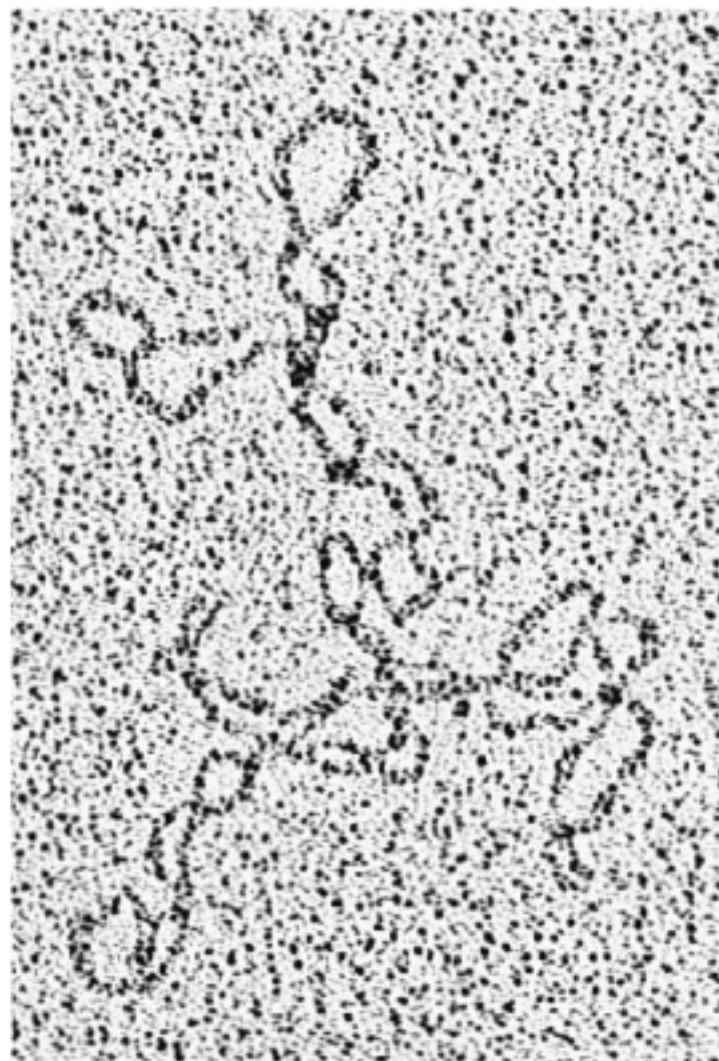
Gli effetti possono essere dimostrati mediante elettroforesi su gel di agarosio.

Meccanismo della DNA girasi

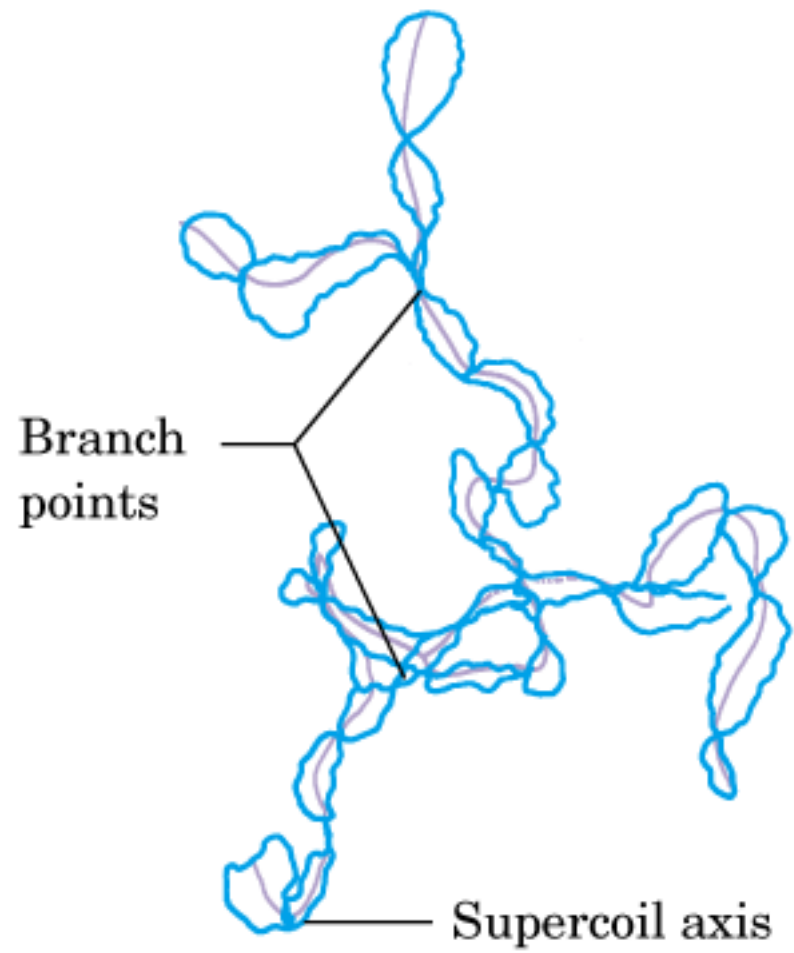


In *E. coli* ci sono almeno quattro topoisomerasi, identificate con i numeri romani:

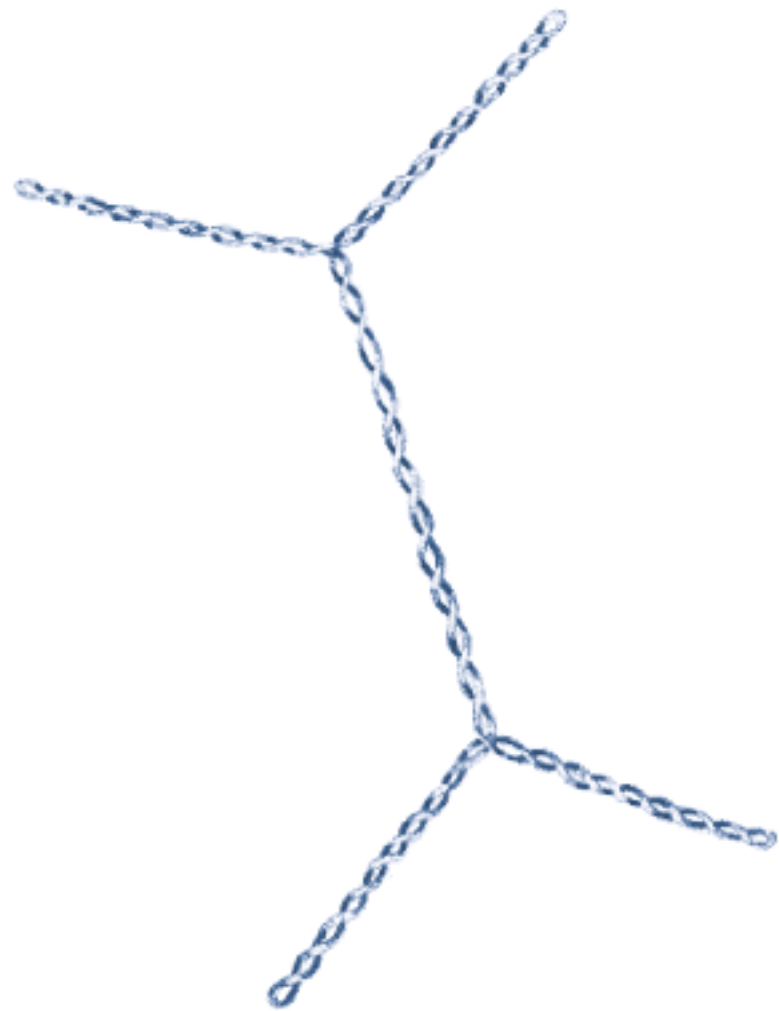
1. Topoisomerasi di tipo I (topoisomerasi I e III): rilassano il DNA rimuovendo i superavvolgimenti negativi (aumentano Lk)
2. Topoisomerasi di tipo II (topoisomerasi II o DNA girasi): produce superavvolgimenti negativi (riduce Lk)



(a)

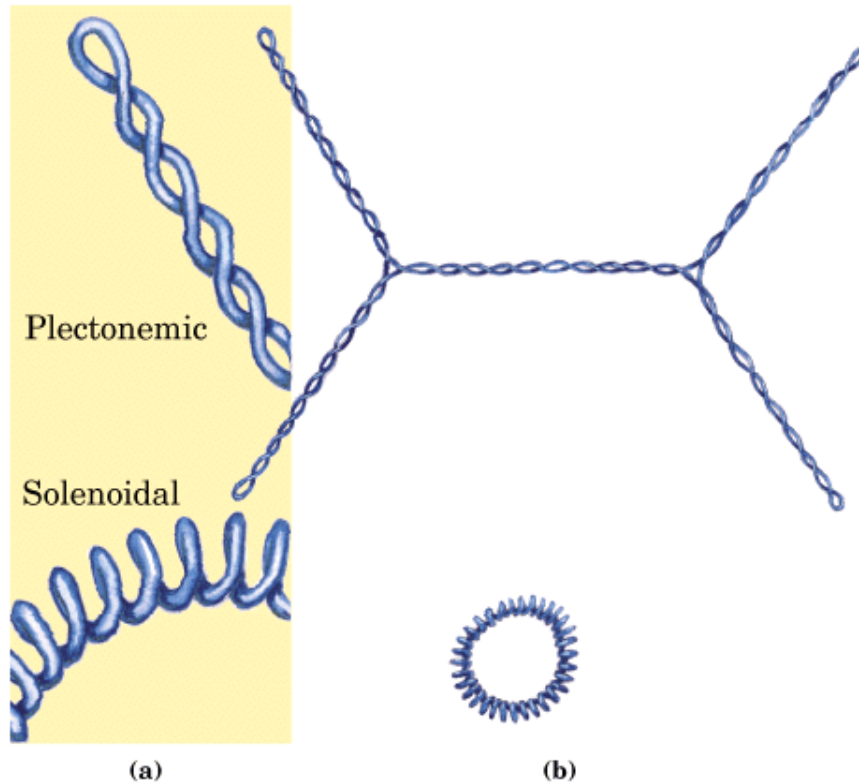


(b)



(c)

Superavvolgimento plectonemico e a solenoide



Il superavvolgimento plectonemico prende la forma di ampi avvolgimenti destrigiri

Il superavvolgimento a solenoide ha la forma di stretti avvolgimenti levogiri attorno ad una struttura immaginaria a forma di tubo.

Le due forme sono rapidamente convertibili l'una nell'altra.