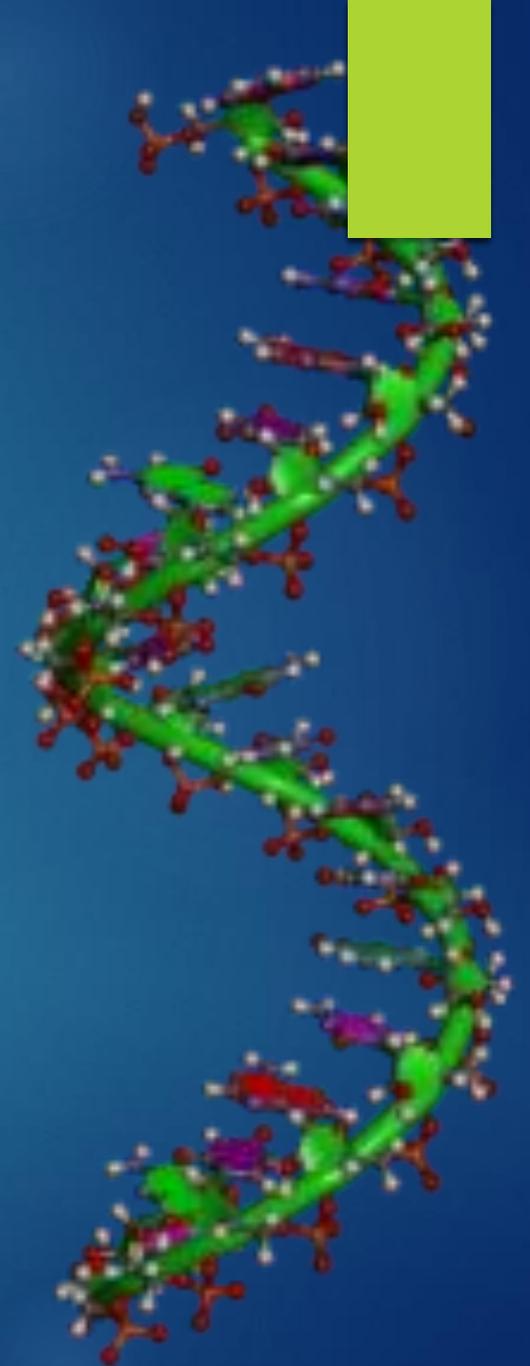
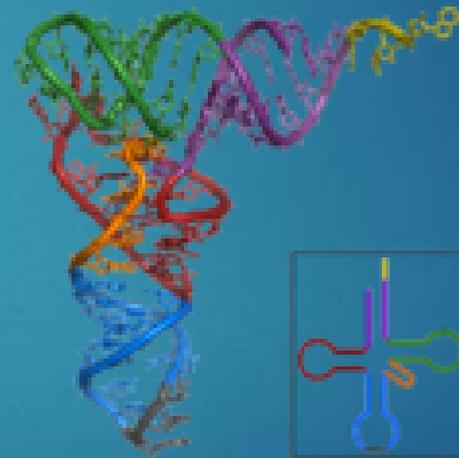
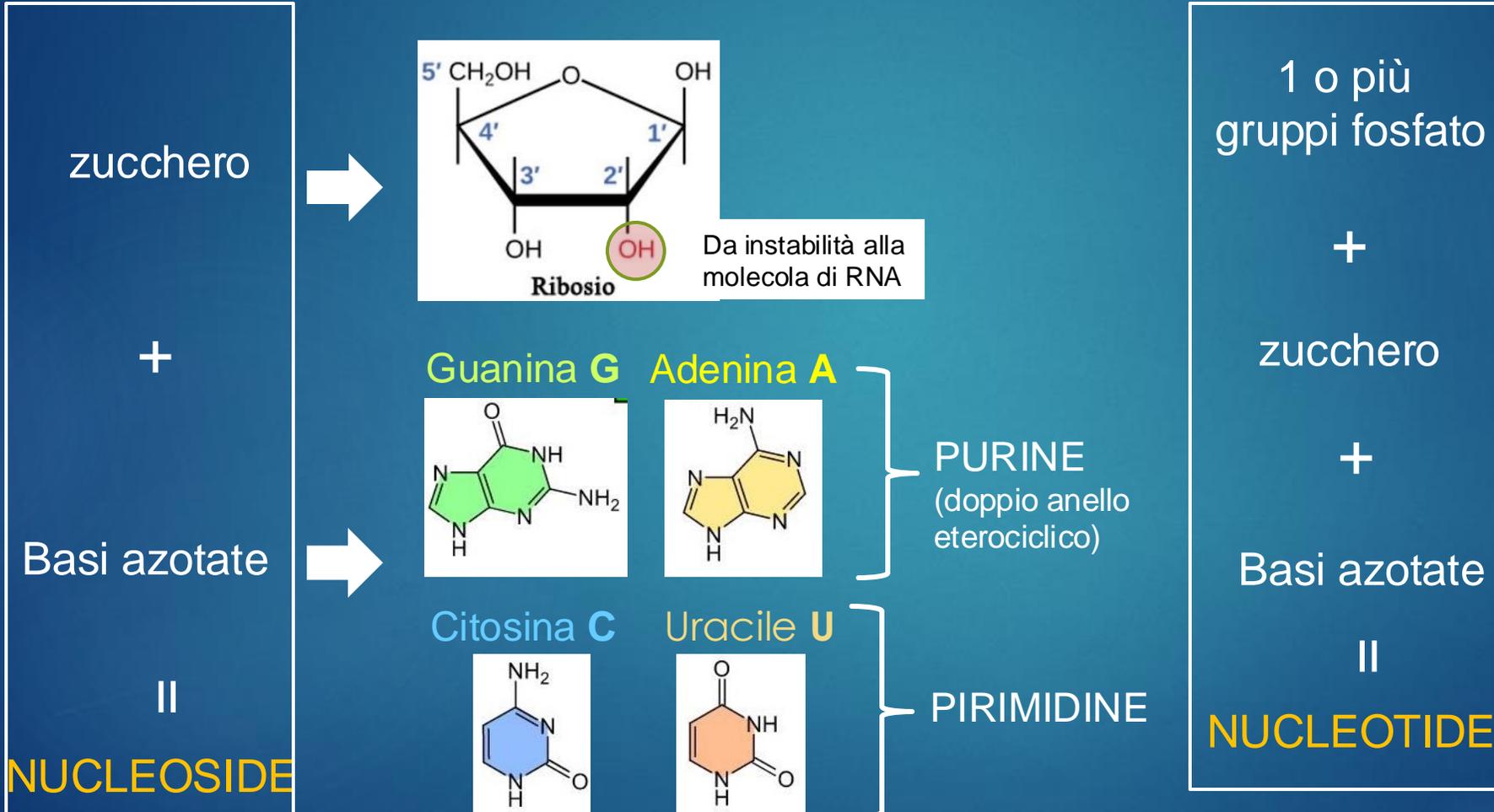


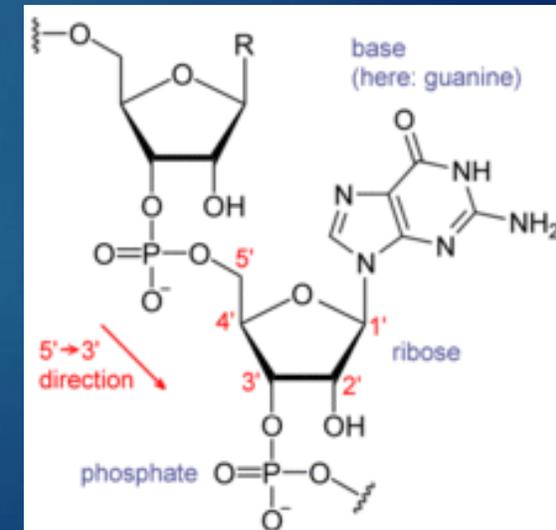
RNA: Acido ribonucleico



Struttura chimica RNA



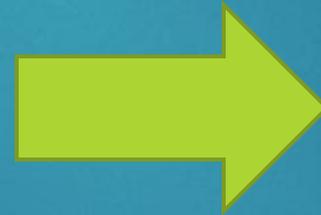
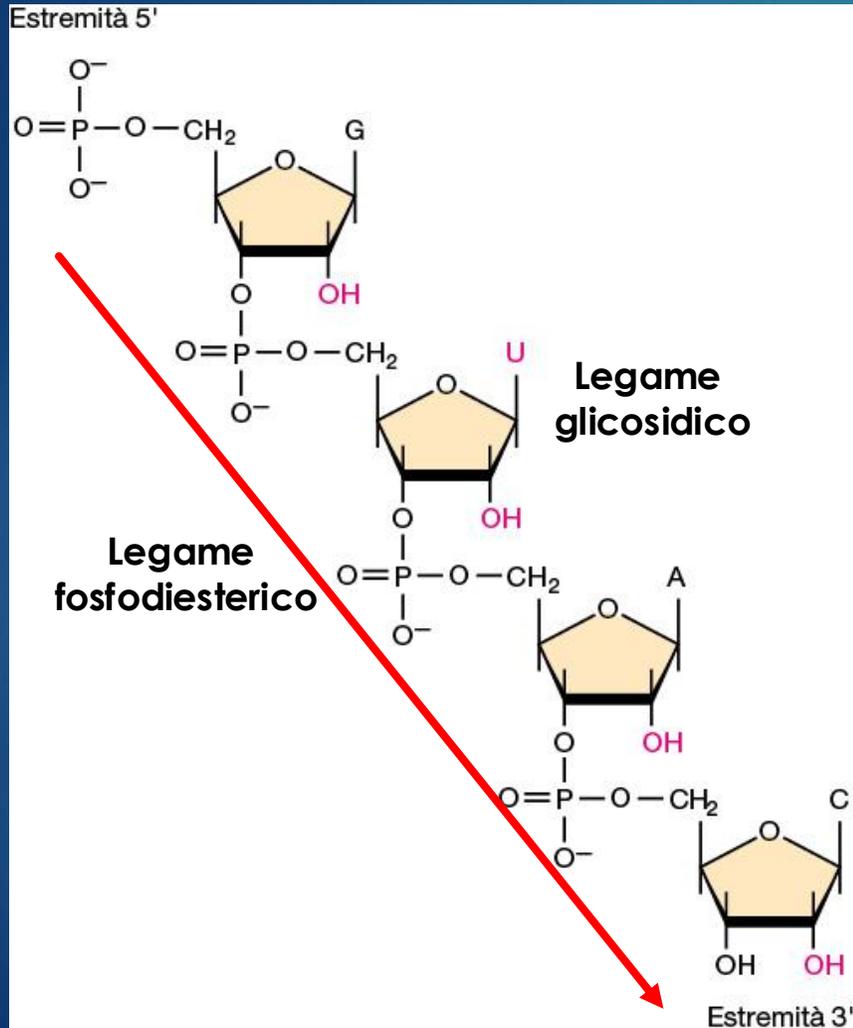
Legame estere



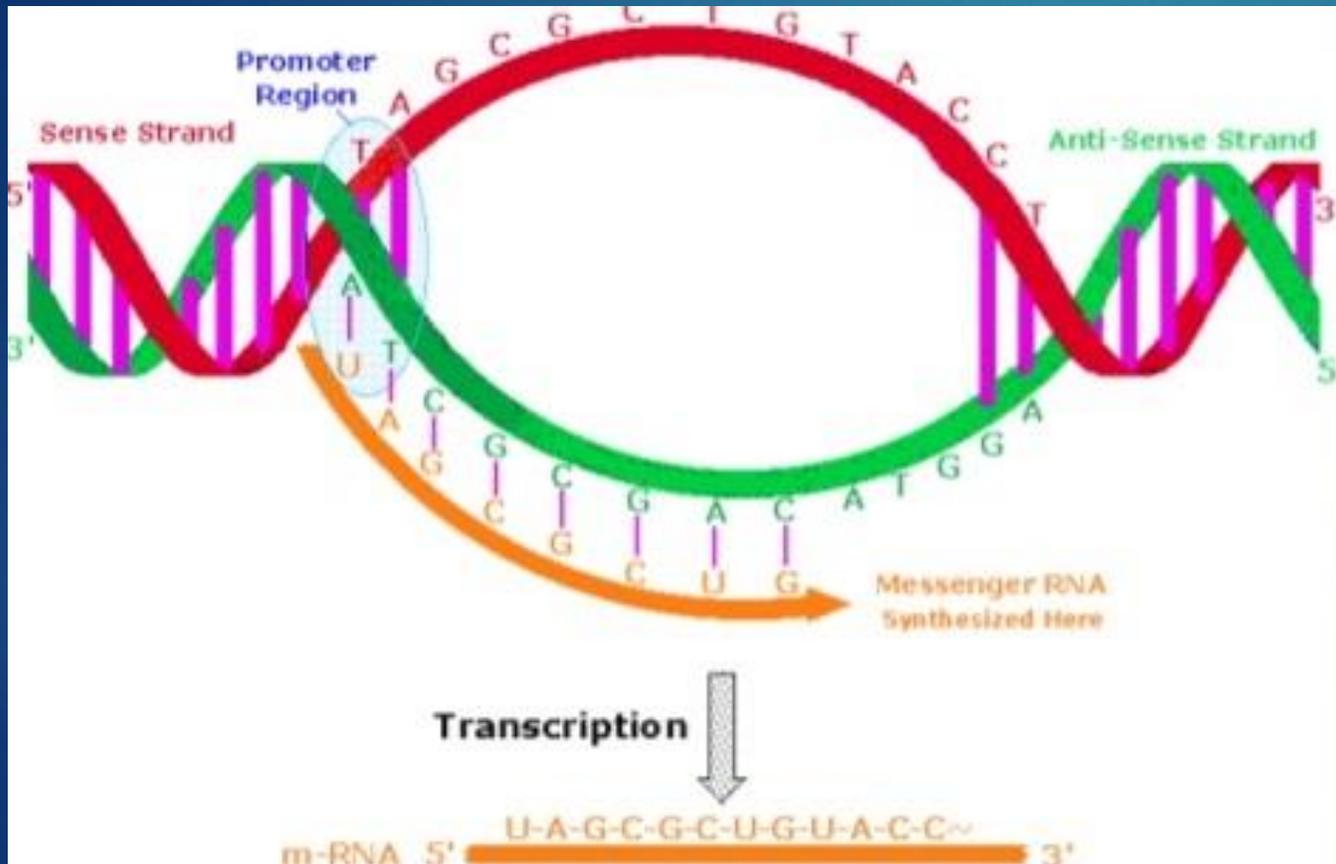
Legame Glicosidico

Struttura chimica RNA

Catena polinucleotidica con polarità 5' → 3'



Sintesi del RNA

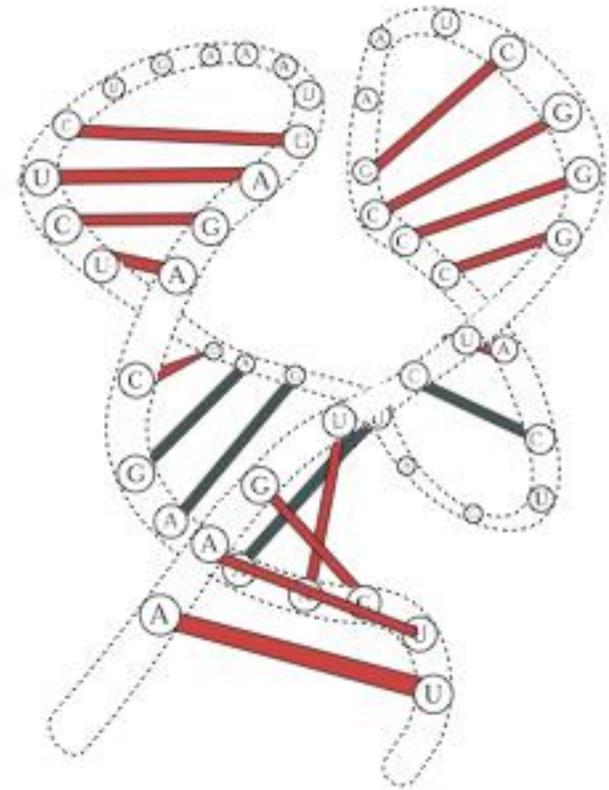
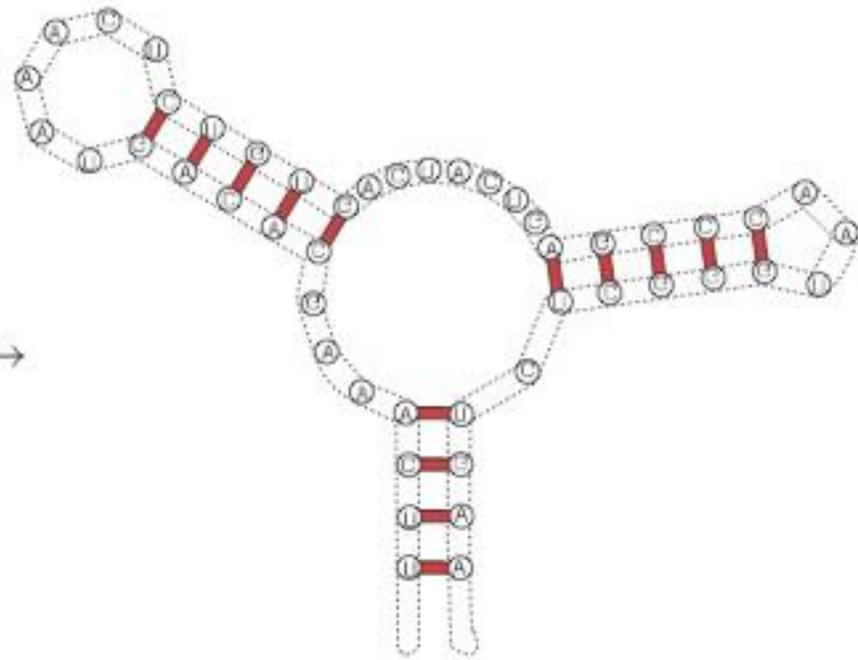


Gli RNA sono generati come copia a filamento singolo di un filamento di DNA mediante il processo di TRASCRIZIONE.

Durante la trascrizione la base azotata A del DNA si appaia con U nella molecola di RNA.

Il genoma di molti virus è costituito da RNA a singola o doppia elica

AAGUCUGGGCUAAGCCACUGAUGAGUCUCUGAAAUUGAGACGAAACUU



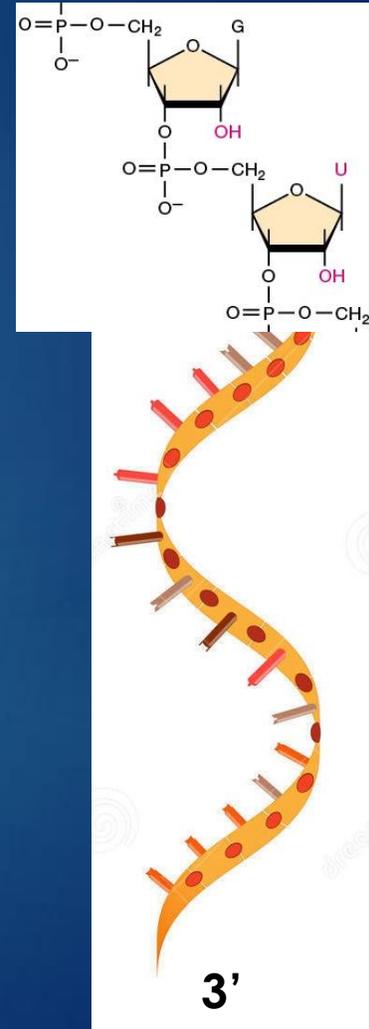
Primary

Secondary

Tertiary

Struttura fisica e topologica del RNA

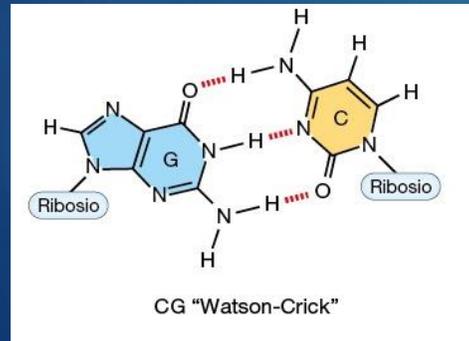
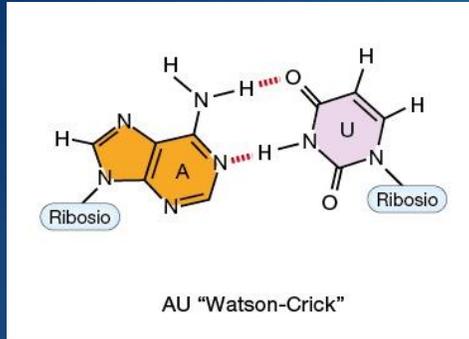
- ▶ Singola catena polinucleotidica, la presenza del gruppo ossidrilico **OH in posizione 2'** dello zucchero crea un ingombro sterico che non permette la conformazione a doppia elica tipo B (definita anteriormente per il DNA).
- ▶ La particolare instabilità della catena singola del RNA la porta a potere assumere diverse conformazioni grazie a :
 - ▶ Le basi possono ruotare liberamente intorno al legame fosfodiesterico e glicosidico
 - ▶ Le basi sono più accessibili e **possono interagire tramite diversi tipi di interazioni**: legami idrogeno canonici, Hoogsteen, o con i zuccheri



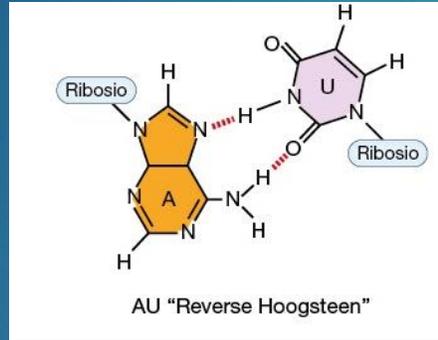
Appaiamenti di basi canonici e non canonici

Legami idrogeno canonici:

« Watson –Crick »



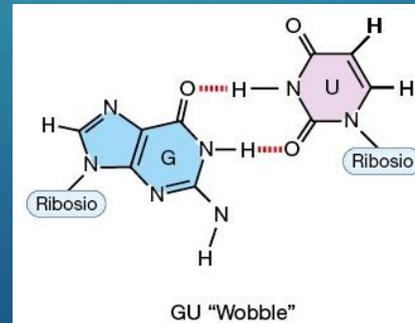
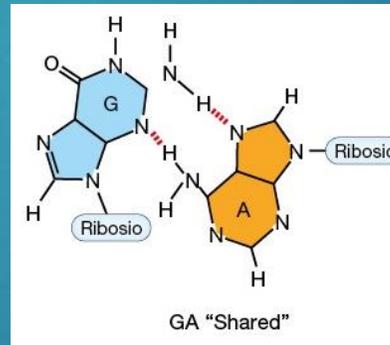
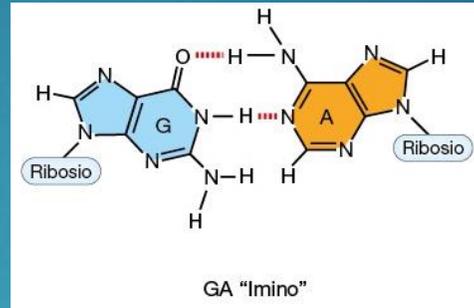
Appaiamenti tipo Hoogsteen



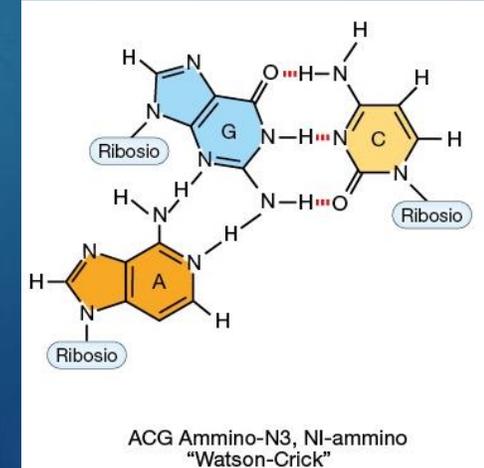
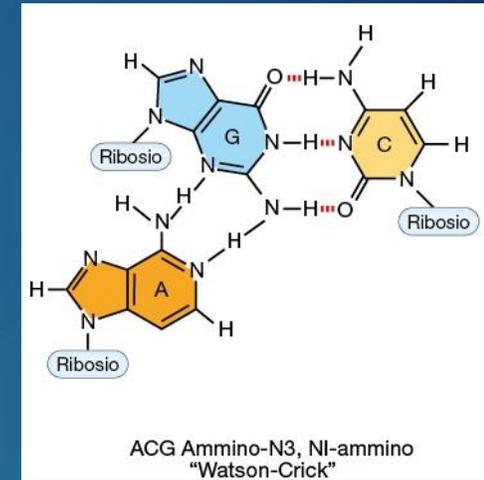
Appaiamenti tipo

G - A

G - U

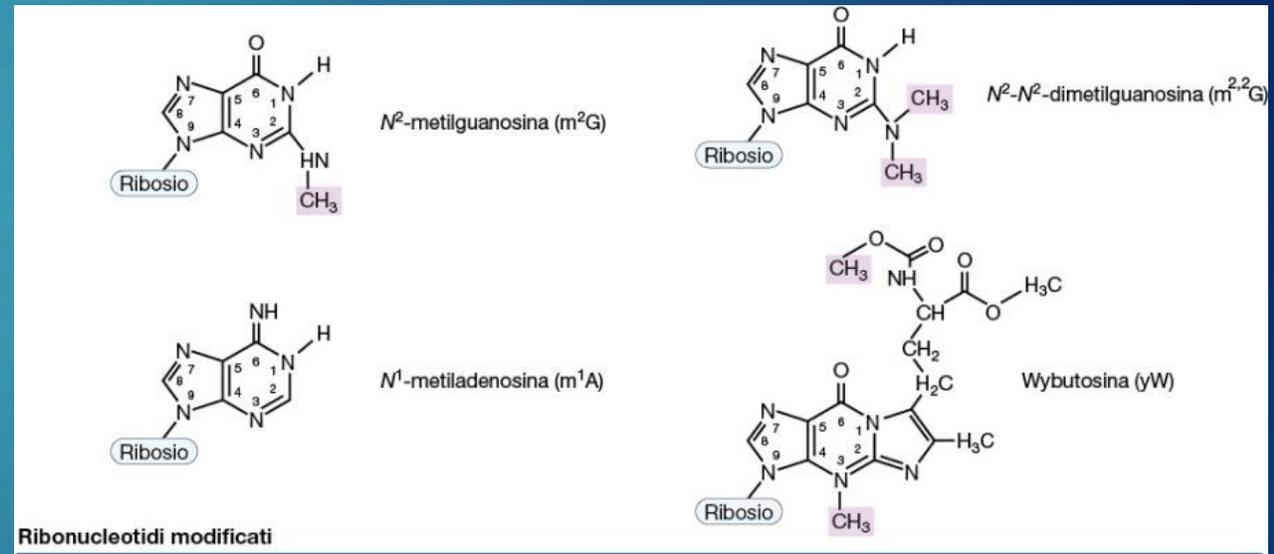
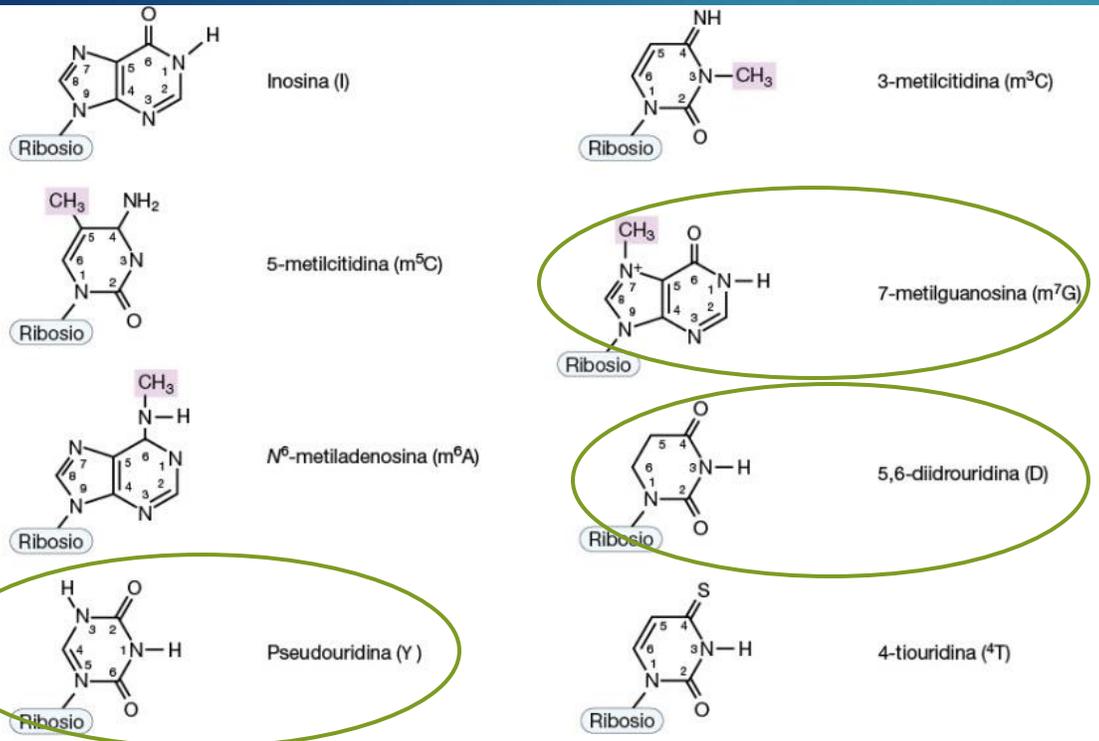


Strutture a tre basi



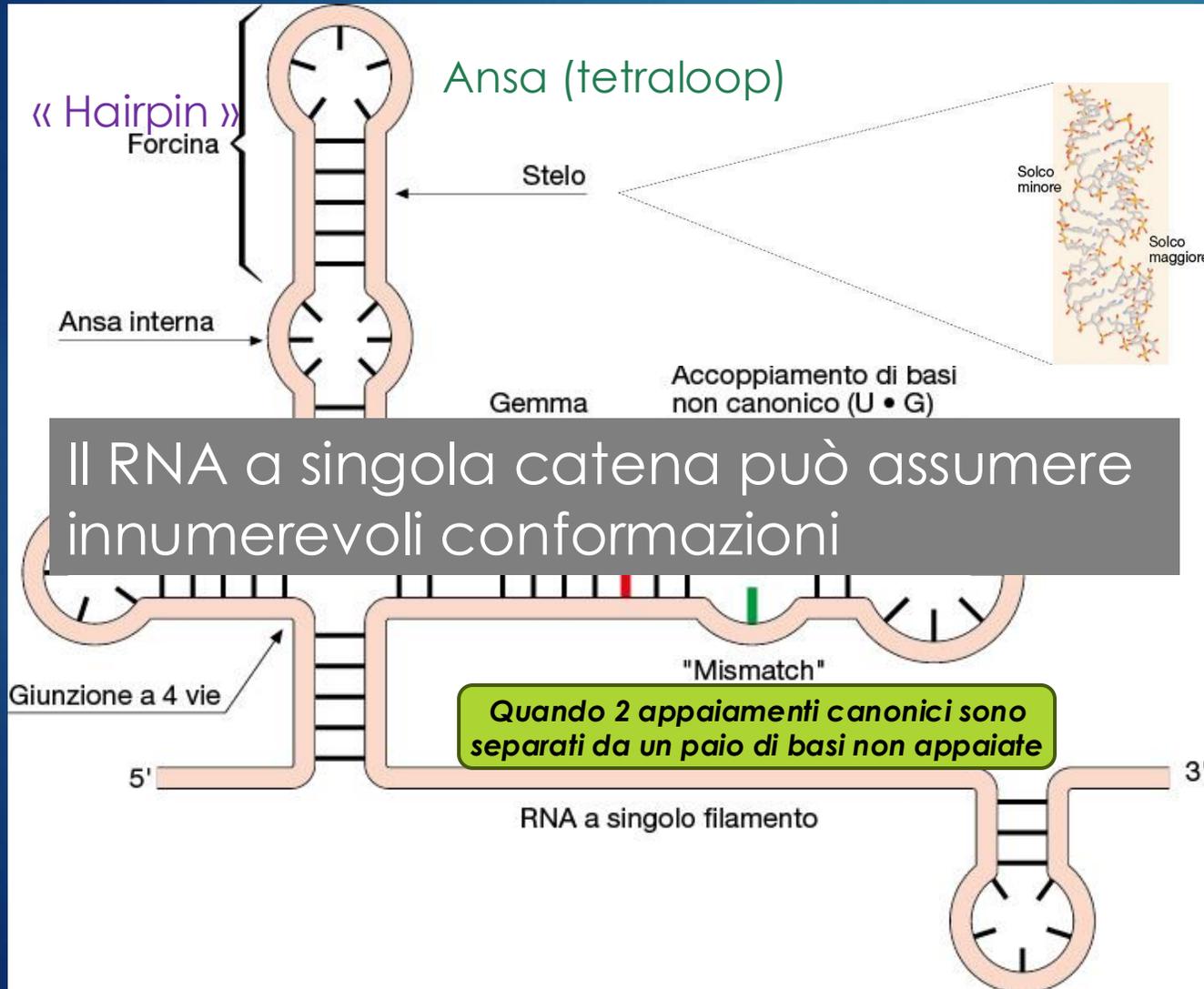
Ribonucleotidi modificati

Inoltre, le basi dell'RNA possono essere modificate in molte posizioni, aumentando le possibilità di impegnare legami idrogeno tra basi in maniera non canonica. Queste modificazioni si osservano principalmente a livello del tRNA.



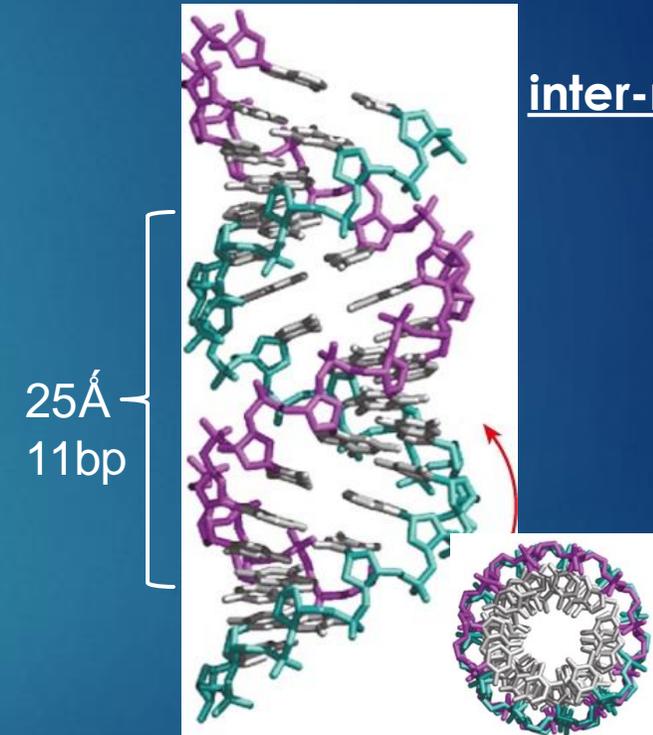
Strutture secondarie

Determinate dalla presenza di regioni complementari
intra-molecolari



Struttura tridimensionale di un tratto di RNA a doppia elica:

conformazione simile a DNA A



In vivo: duplex RNA-RNA o DNA-RNA
C2-OH nel ribosio permette conf in A

RNA structural plasticity -RNA function

RNA molecules perform remarkably diverse functions in cells

Messengers: convey instructions on how, where, and when to make proteins

Non-coding RNAs : catalyze and regulate key steps of gene expression; RNA modification, intron splicing and transposon control

This range of functionality depends critically on the ability of RNAs to fold into complex base-paired secondary structures and higher-order, three-dimensional structures.

Stabilità delle strutture secondarie del RNA dipende delle caratteristiche termodinamiche

In generale, le sequenze di RNA ripiegata a doppio filamento sono tanto più stabili quanto più lunghe siano le sequenze complementari appaiate.

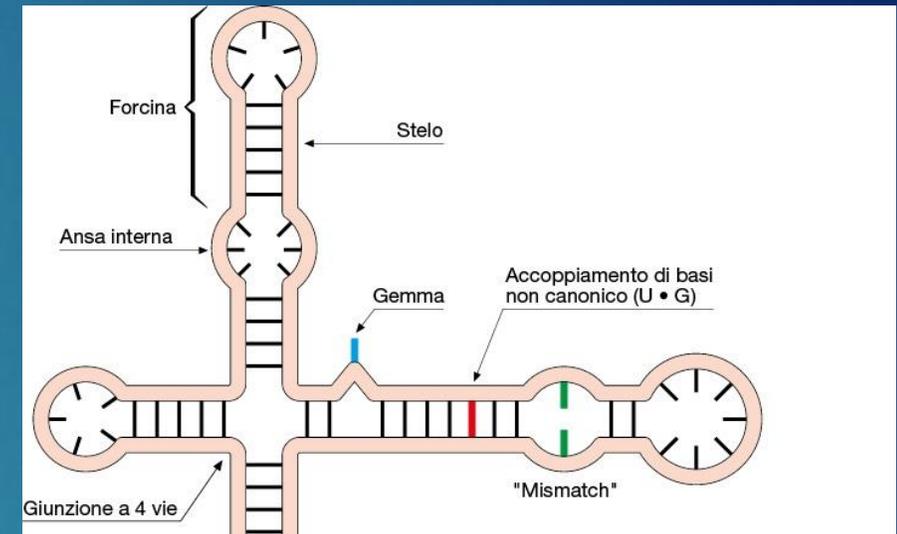
Una sequenza nucleotidica teoricamente può assumere diverse conformazioni, ma quale sia la **conformazione favorita energeticamente** si può calcolare in base alla **energia libera contenuta nella molecola**.

La stabilità di una struttura secondaria si può quantificare in funzione della energia libera rilasciata durante la sua formazione

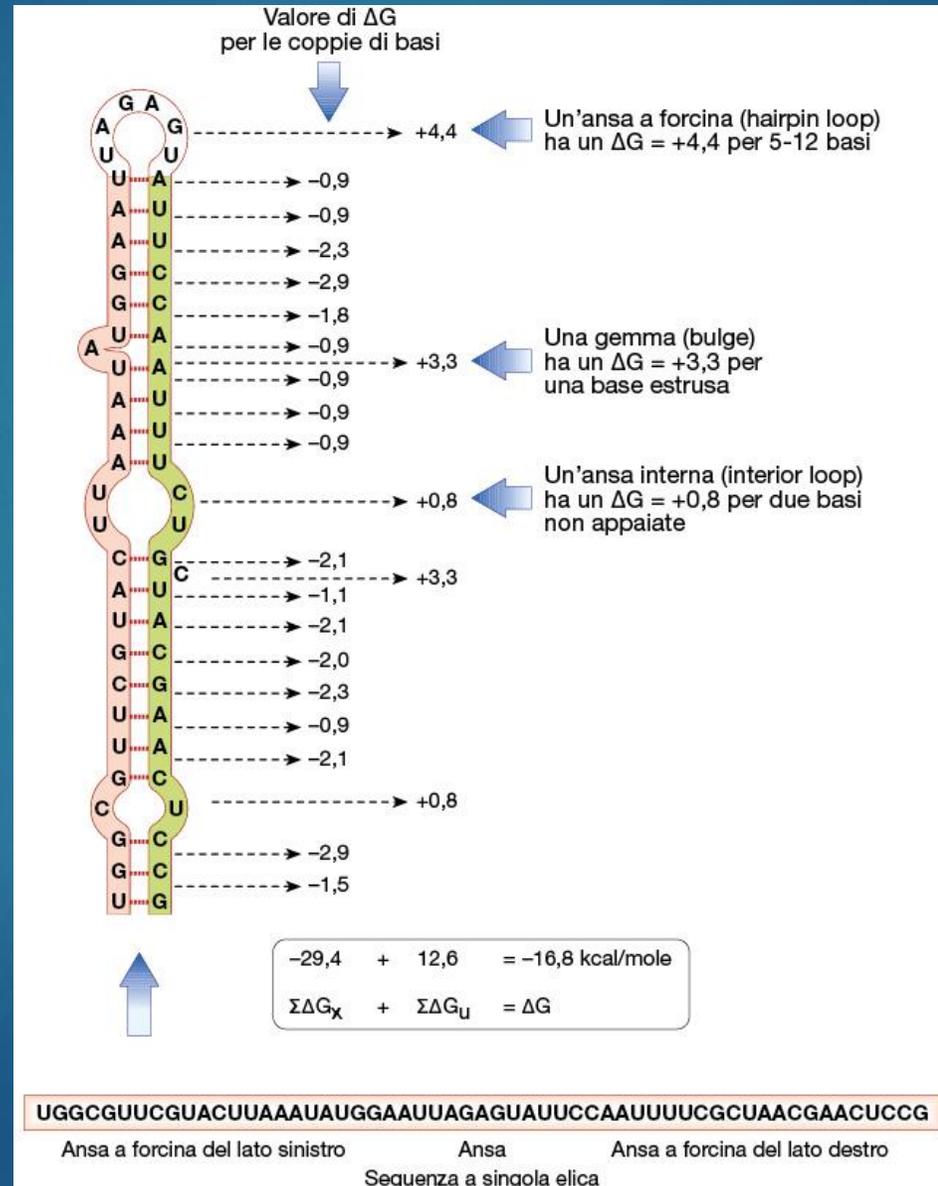
L'energia libera (ΔG) prevede la spontaneità di una trasformazione di stato

$\Delta G < 0 \rightarrow$ reazione **esoergonica, spontanea**

$\Delta G > 0 \rightarrow$ reazione **endoergonica, non spontanea e richiede energia**



Stabilità delle strutture secondarie del RNA



Regioni appaiate stabilizzano
 Regioni NON appaiate destabilizzano

Stabilità delle strutture secondarie del RNA

Stabilità dipende da:

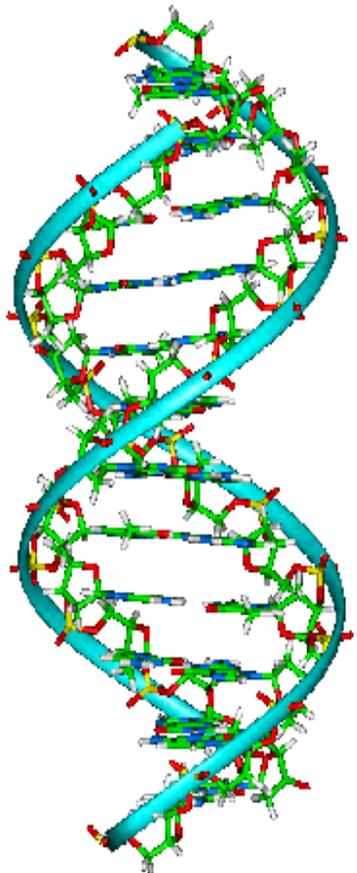
- Legami di idrogeno tra le basi
- Interazioni idrofobiche dall'impilamento delle basi
- Lunghezza delle sequenze appaiate e presenza di strutture secondarie destabilizzanti (anse, gemme...)

| Coppie di paia di basi impilate | ΔG |
|---------------------------------|------------|
| 5' – AA – 3' 3' – UU – 5' | -0,9 |
| 5' – AU – 3' 3' – UA – 5' | -0,9 |
| 5' – UA – 3' 3' – AU – 5' | -1,1 |
| 5' – CA – 3' 3' – GU – 5' | -1,8 |
| 5' – CU – 3' 3' – GA – 5' | -1,7 |
| 5' – GA – 3' 3' – CU – 5' | -2,3 |
| 5' – GU – 3' 3' – CA – 5' | -2,1 |
| 5' – CG – 3' 3' – GC – 5' | -2,0 |
| 5' – GC – 3' 3' – CG – 5' | -3,4 |
| 5' – GG – 3' 3' – CC – 5' | -2,9 |

Strutture secondarie del RNA

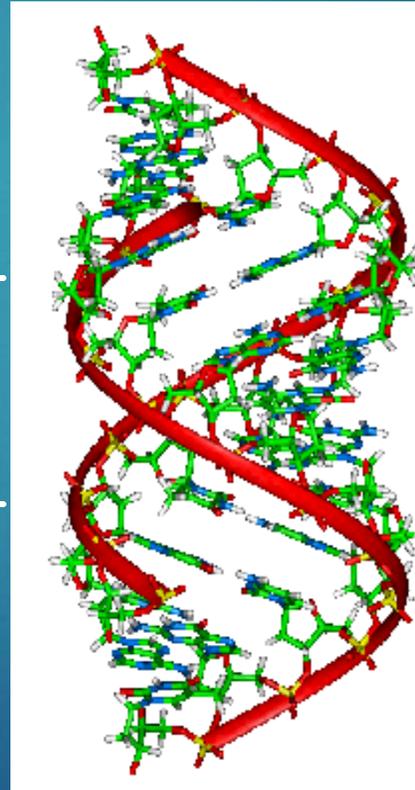
RNA doppio filamento (conformazione DNA A)

DNA B



Solco minore:
Più accessibile

- Facilita la formazione di legami idrogeno
- Il gruppo OH 2' del ribosio è molto reattivo e tende a fare attacco nucleofilo sullo scheletro degli ac.nucleici (le permette avere funzioni catalitiche)



Solco maggiore:
Stretto e profondo

In questa conformazione si può trovare il materiale genetico di alcuni virus (dsRNA:double stranded RNA).

Inoltre è la base del meccanismo d'interferenza del RNA (siRNA: small interference RNA)

• Rende impossibile la formazione di complessi stabili con proteine al solco maggiore.

Conformazione-Funzione RNA

Analogamente a quanto succede con le proteine, l'RNA può acquisire conformazioni secondarie che possono ulteriormente ripiegarsi formando **strutture terziarie**.

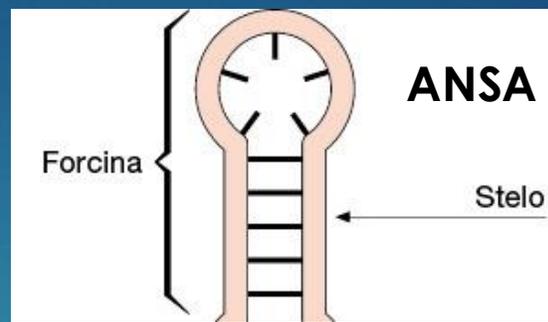
Tetra-loop

Pseudonodi

Motivo A minore

Struttura a trifoglio

Tetraloop



ANSA di 4 nucleotidi o Tetraloop

Forcina

Stelo

Interazioni idrofobiche di impilamento

Sono strutture compatte e stabili formate da 4 nucleotidi che si trovano alle estremità delle forcine o hairpin: anse di 4 nucleotidi. Di solito le anse destabilizzano, ma alcune hanno un contenuto energetico vantaggioso.

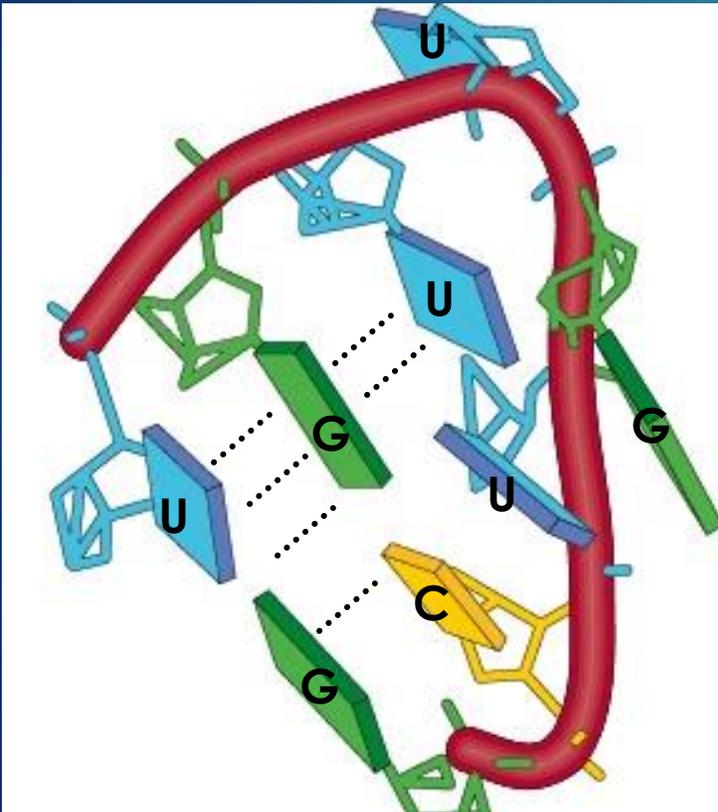
Possono essere formati da diverse sequenze di nucleotidi. I più comuni :

UNCG (N = A, C, G, or U),

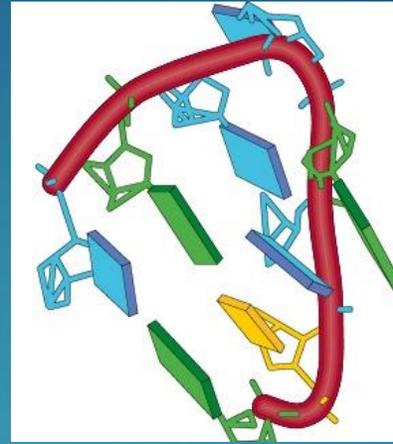
GNRA (R = A or G)

CUUG

GC-UGUU-GU loop



Tetraloop

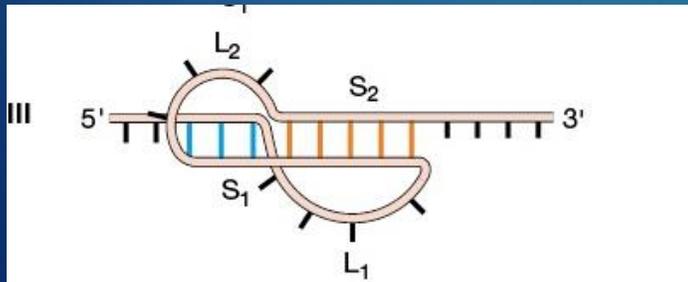
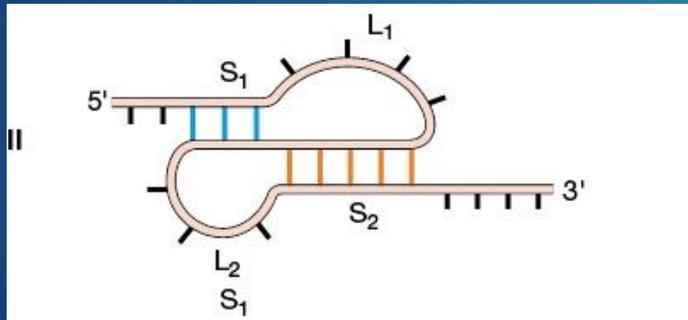
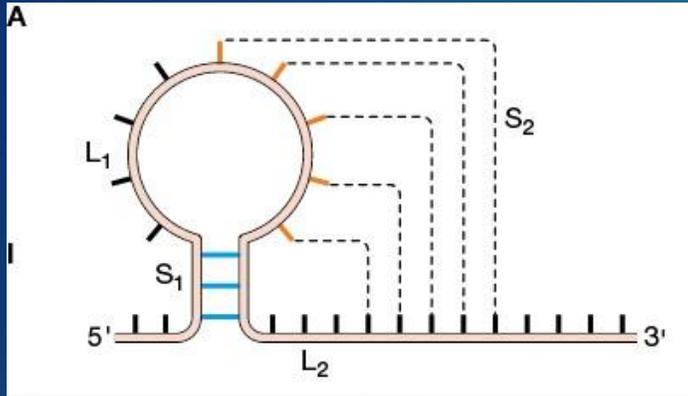


ANSA di 4 nucleotidi o Tetraloop

- Aiutano o iniziano il processo di rimodellamento («folding») del RNA
- Sono punti di contatto con altre sequenze o molecole di RNA, formando strutture terziarie di RNA
- Sono punti di interazione con proteine, facilitando in questi elementi l'assemblaggio di ribonucleoproteine

Pseudonodo

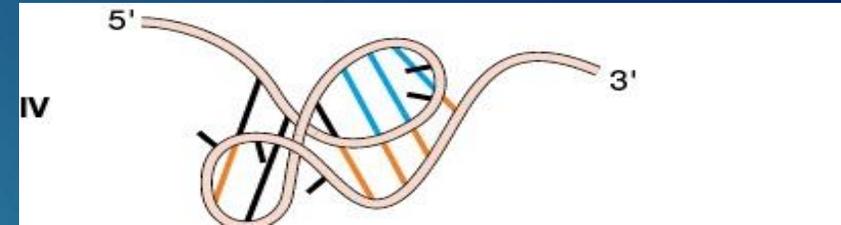
(appaiamenti in posizioni non contigue)



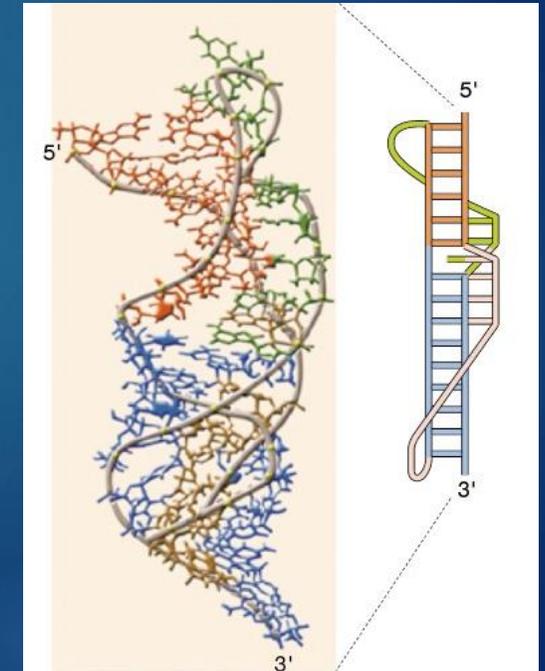
1. Si forma a partire di una sequenza di RNA che presenta un'ansa

2. I nucleotidi presenti nell'ansa interagiscono con nucleotidi che sono vicini nello stesso filamento ma non contigui, formandosi un doppio filamento.

3. La struttura ruota e i due tratti si trovano allineati sullo stesso asse

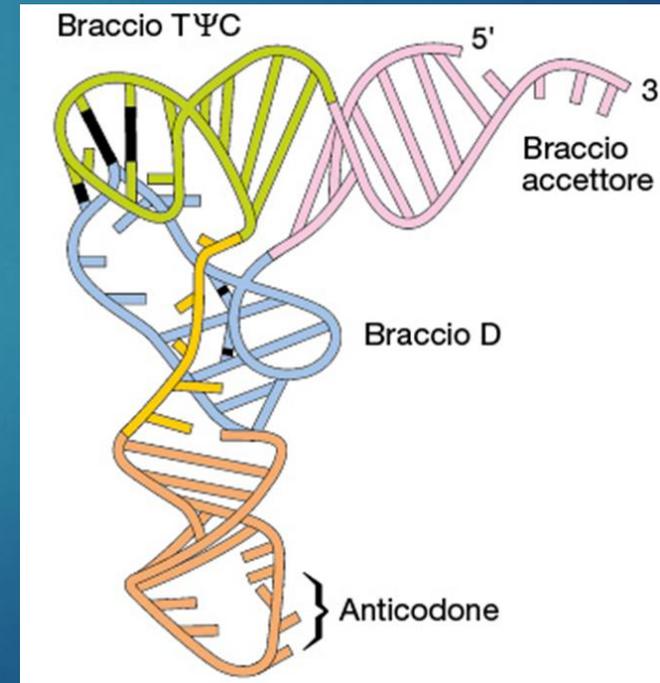
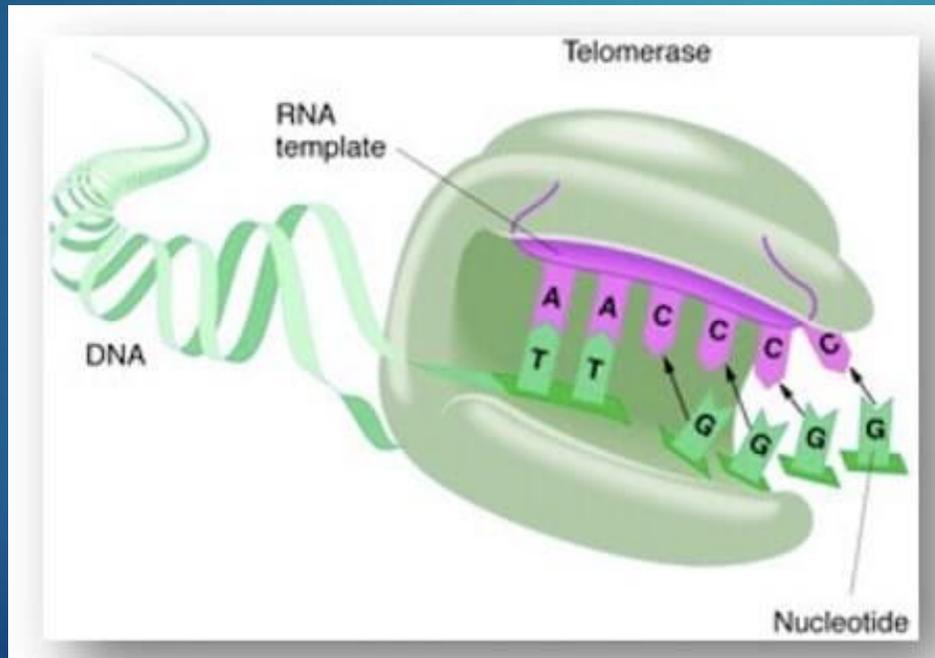


4. Ulteriori legami di idrogeno possono portare alla formazione di triple eliche



Pseudonodo

La presenza di pseudonodi in regioni importanti di enzimi fondamentali come le telomerasi (ribonucleasi con RNA stampo a pseudonodo) o in tRNAs fa pensare ad un ruolo specifico dal punto di vista funzionale per questa struttura



Motivo A-minore

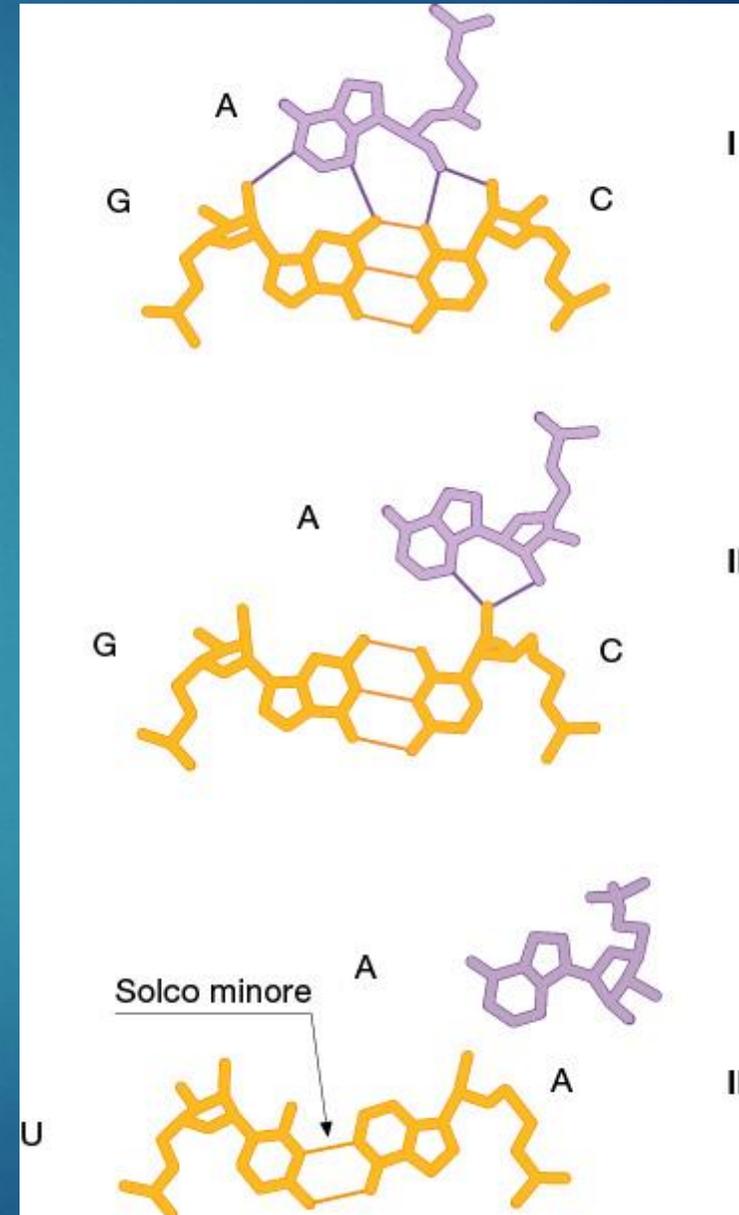
Si forma come conseguenza della interazione delle Adenosine di una molecola di RNA con il solco minore di strutture di RNA a doppia elica, formando strutture terziarie

L'interazione è tramite Legami di van der Waals

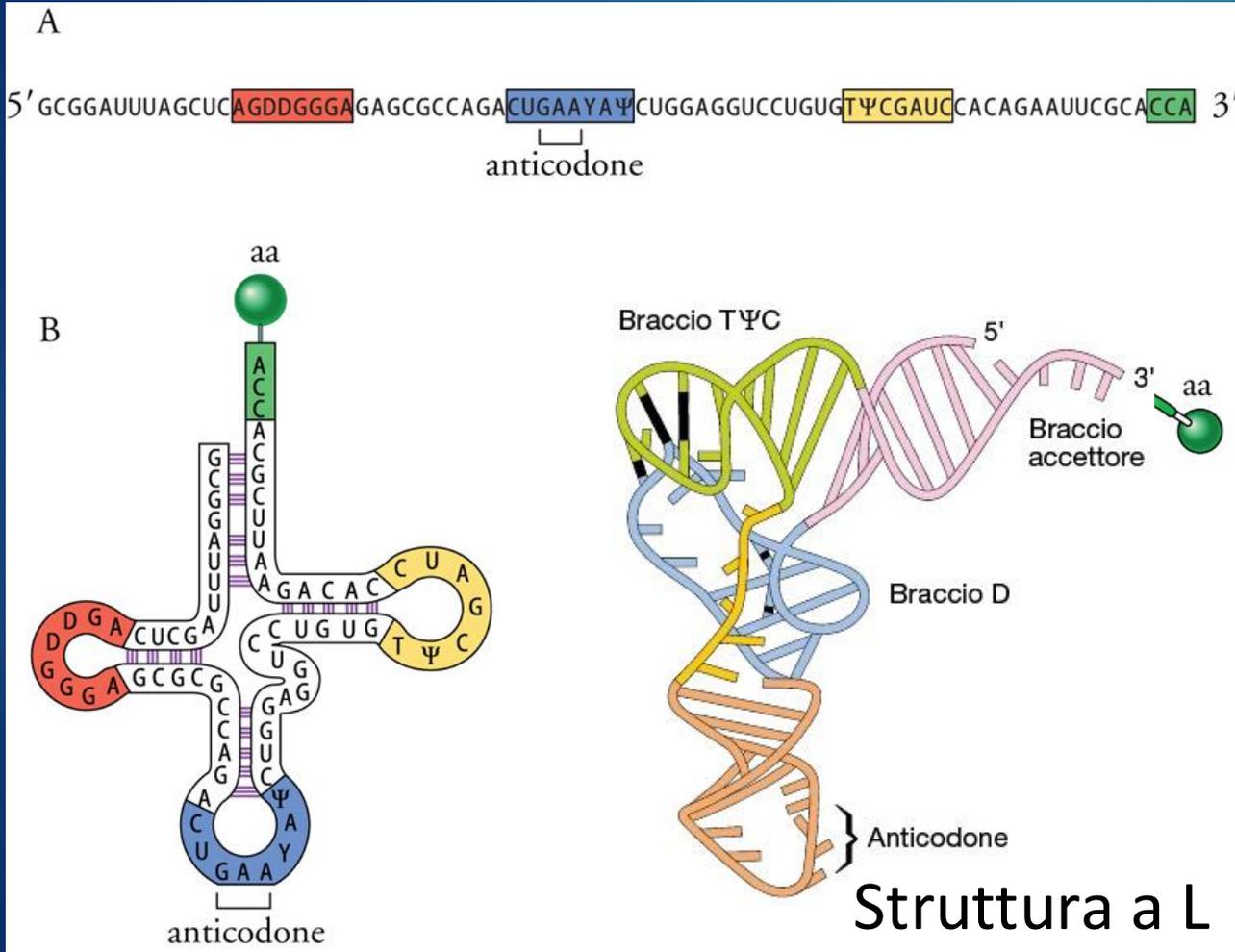
Il motivo A-minore stabilizza:

- i contatti tra eliche di RNA
- i contatti tra anse ed eliche
- Le giunzioni e ripiegamenti molto stretti

E' una delle strutture più frequenti nel RNA ribosomiale e ribozimi



Struttura a trifoglio: struttura tipica degli t-RNA maturi



Presenta delle basi modificate come la diidrouridina (D) e pseudouridina (Ψ)

Presenza di uno stelo accettore in cui l'estremità 3' è preposta al sito di attacco degli aa

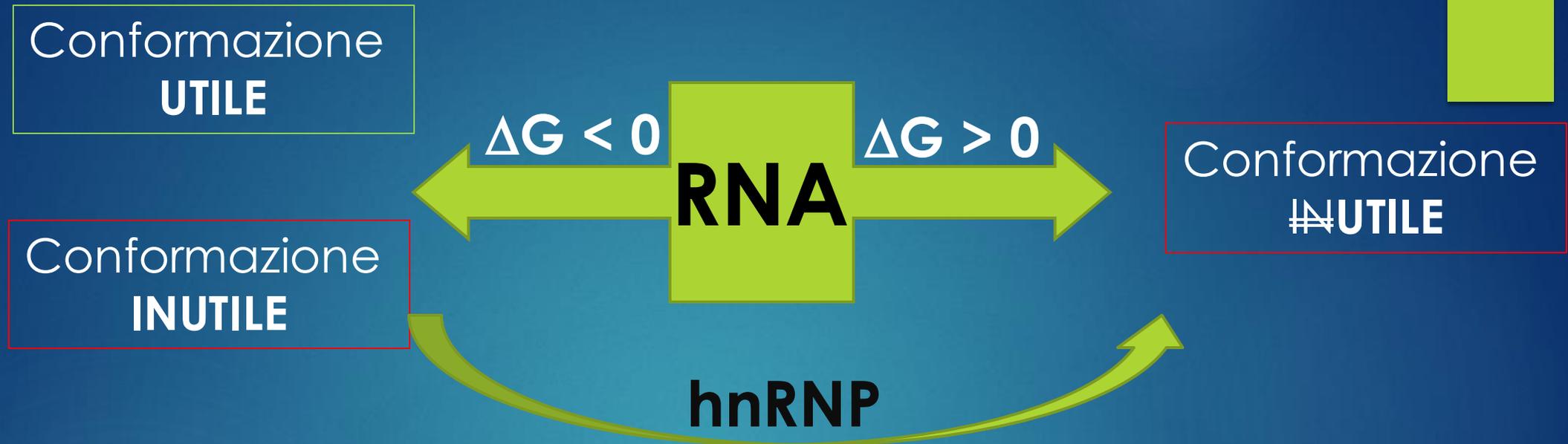
Presenta altri 3 stelli con delle anse che appaiando tra loro formano una struttura a L

Struttura a trifoglio (73-92 nt)

Discussa più avanti

Conformazione – ΔG ?

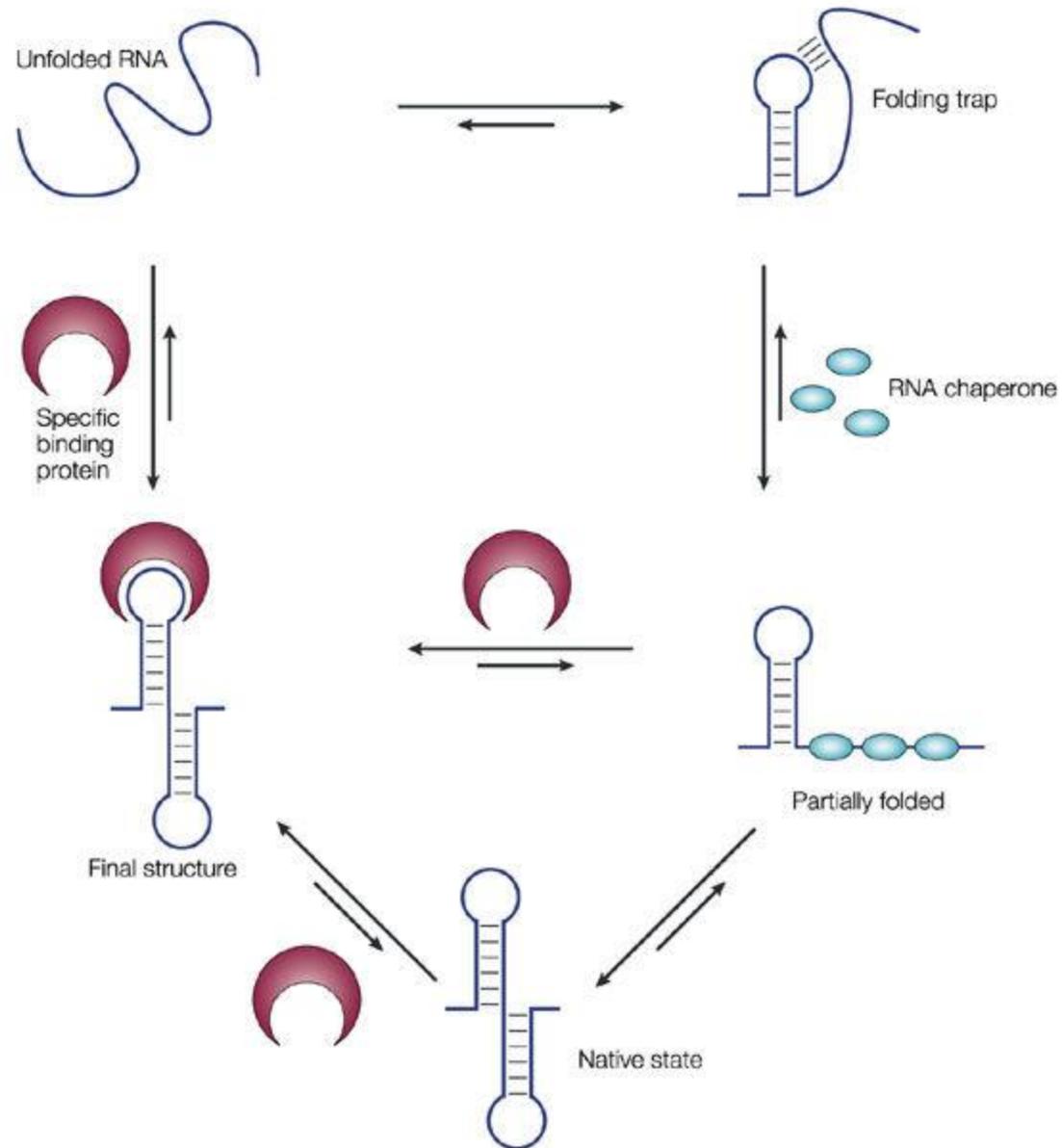
- Non sempre la conformazione più favorita dal punto di vista energetico è una conformazione utile
- Per controllare il utile ripiegamento del RNA esistono delle proteine che legandosi alla molecola bloccano o guidano il corretto piegamento



Ribonucleoproteine nucleari eterogenee: hnRNP

- Guidano il RNA verso un ripiegamento funzionale nella conformazione nativa, o non permettono che prenda la conformazione non funzionale: specific binding proteins + chaperones
- Distruggono le conformazioni inutili dando la possibilità di tornare alla conformazione nativa: chaperones

Esempio: proteine ribosomiali guidano l'assemblaggio del ribosoma



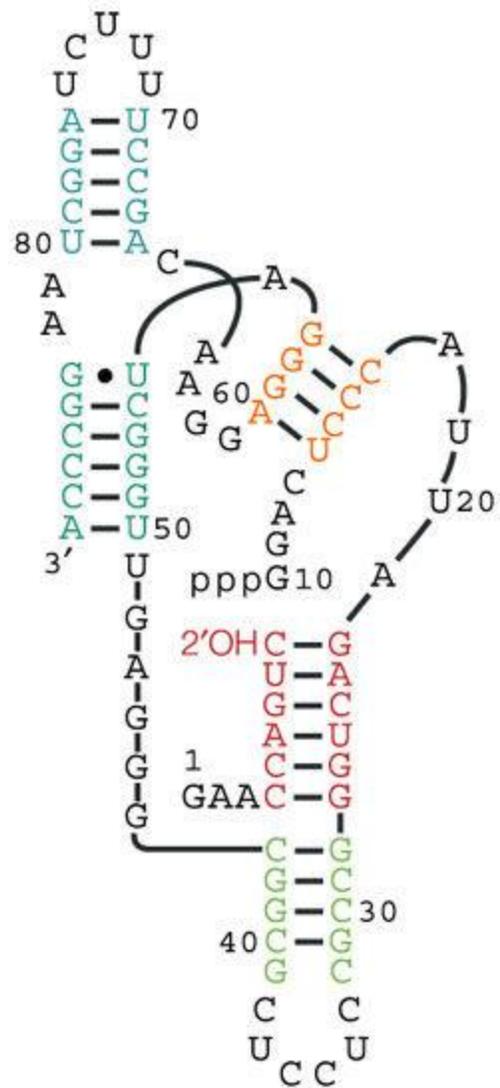
Nature Reviews | Molecular Cell Biology

From the following article:

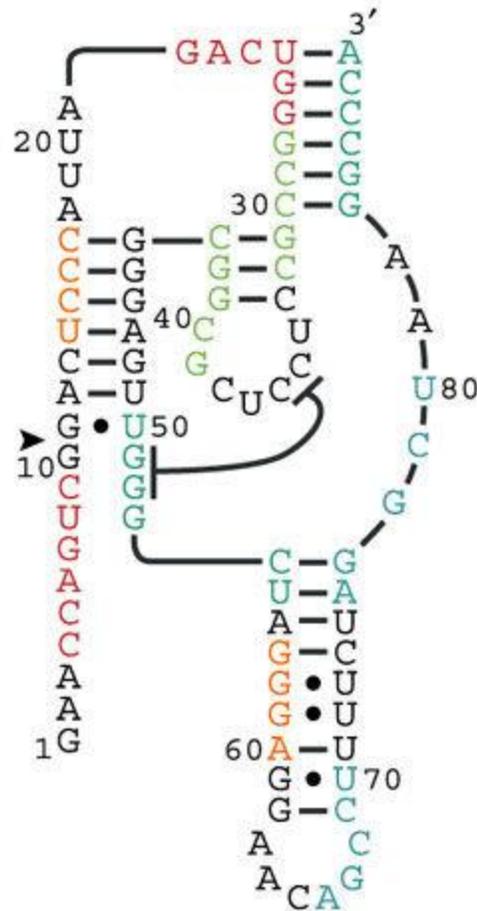
[Strategies for RNA folding and assembly](#)

Renée Schroeder, Andrea Barta and Katharina Semrad

Nature Reviews Molecular Cell Biology 5, 908-919 (November 2004)



Ligase fold



HDV fold

Un RNA può assumere 2 conformazioni diverse che conferiscono 2 funzioni diverse:

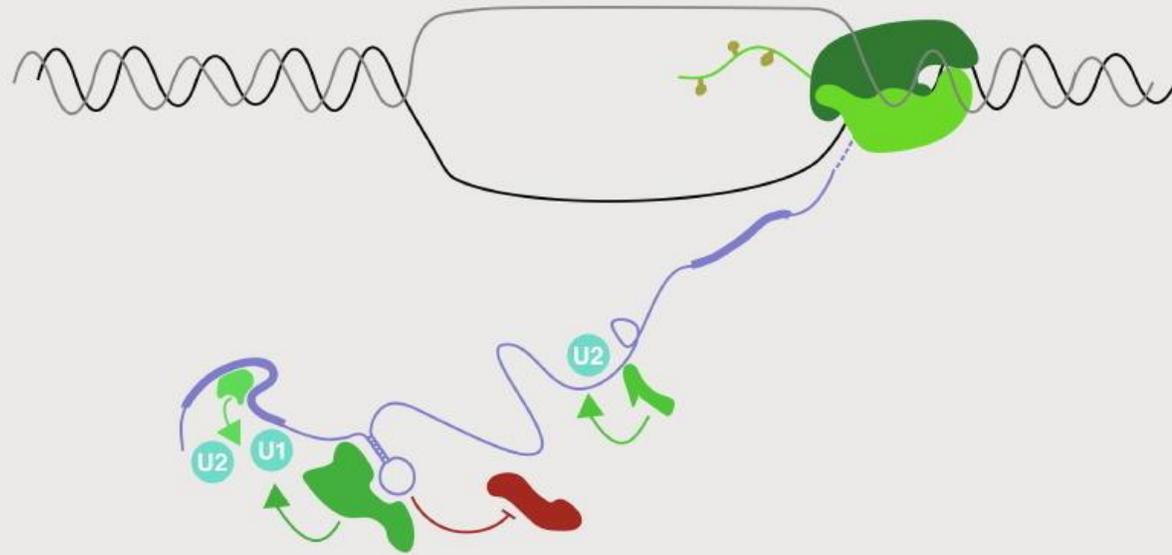
1. Ribozima (hepatitis delta virus :HDV)
2. Ligasi

From the following article:

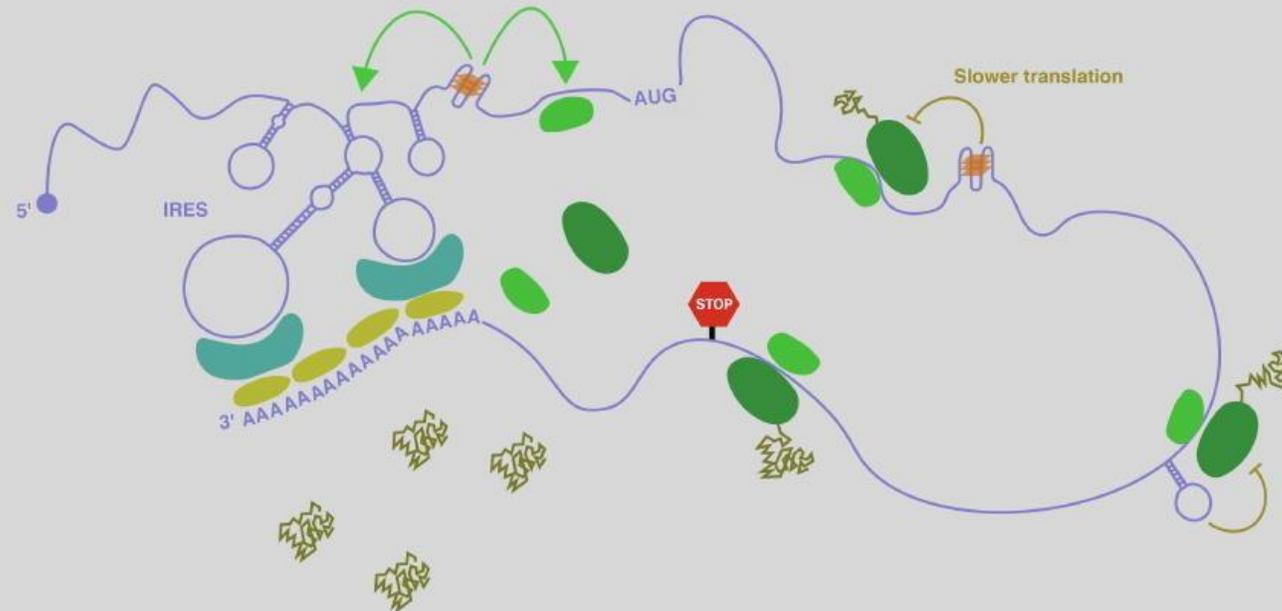
[Strategies for RNA folding and assembly](#)

Renée Schroeder, Andrea Barta and Katharina Semrad

Nature Reviews Molecular Cell Biology 5, 908-919 (November 2004)

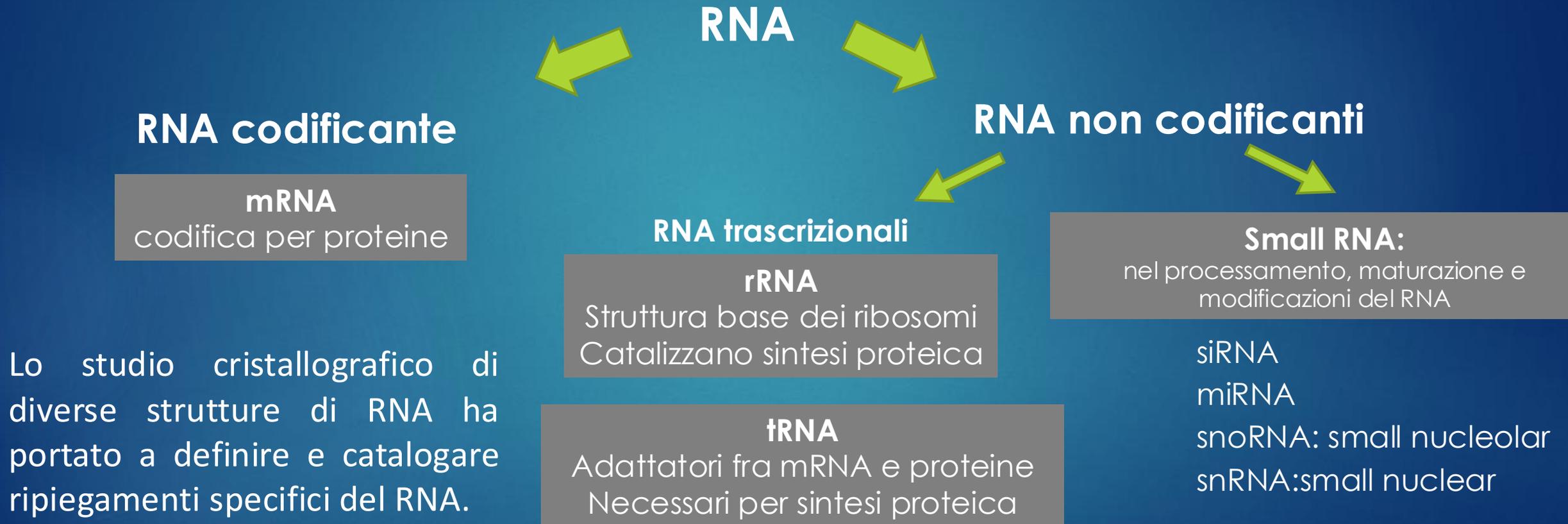


Regulatory effects of RNA secondary structures over splicing and translation



Conformazione-Funzione RNA

Le molteplici funzioni del RNA sono possibili grazie alla plasticità strutturale della molecola



Lo studio cristallografico di diverse strutture di RNA ha portato a definire e catalogare ripiegamenti specifici del RNA.

2 concetti

RIBOZIMA: Sono molecole di RNA con funzione catalitica, resa possibile dalle diverse strutture che possono formare i gruppi funzionali all'esterno.

APTAMERI: Sono molecole di RNA (50-100 nt) in grado di adattarsi e reagire con molecole molto diverse. Utilizzati per inibire l'attività della molecola target.