

Acidi Nucleici

Ruolo: custodire e trasmettere l'informazione genetica.

Il progetto completo di un organismo è codificato nel suo acido nucleico. Gran parte dello sviluppo fisico di un organismo durante la sua vita è dipende da quanto codificato negli acidi nucleici.

Sono gli unici composti che presentano le potenzialità dell'**autoreplicazione** e contengono le informazioni per la corretta sintesi delle proteine.

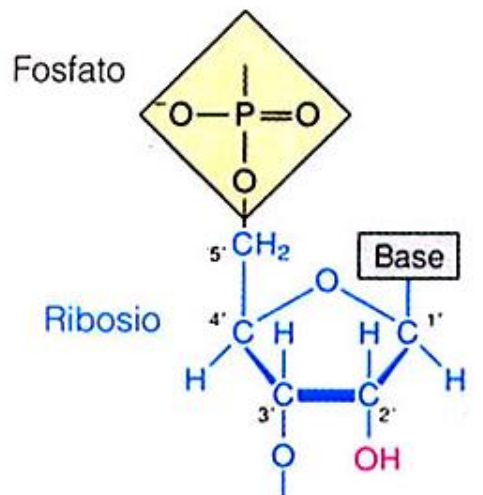
Esistono due tipi di acidi nucleici:

- RNA Acido ribonucleico
- DNA Acido deossiribonucleico

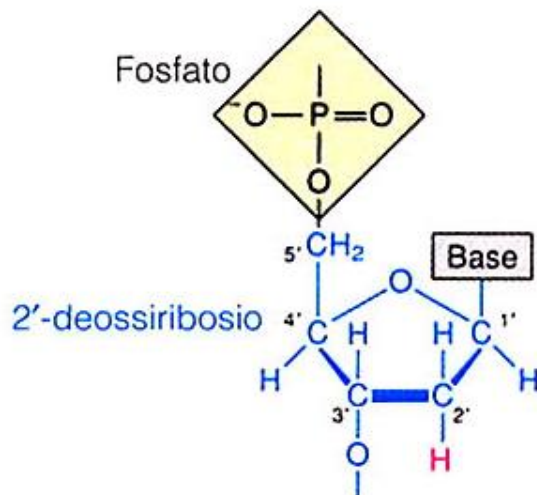
Si tratta in entrambi i casi di strutture polimeriche.

Nucleotidi

Il nucleotide è l'unità costitutiva degli acidi nucleici. I nucleotidi hanno tre componenti: un aldopentoso, uno o più fosfati, una base debole eterociclica (fosfato + zucchero + base)

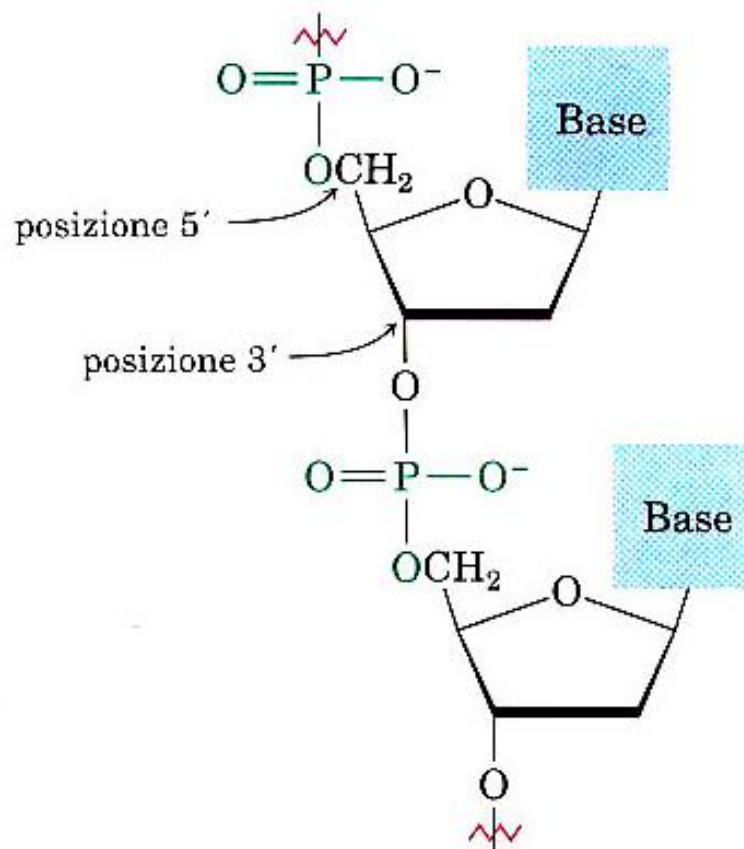
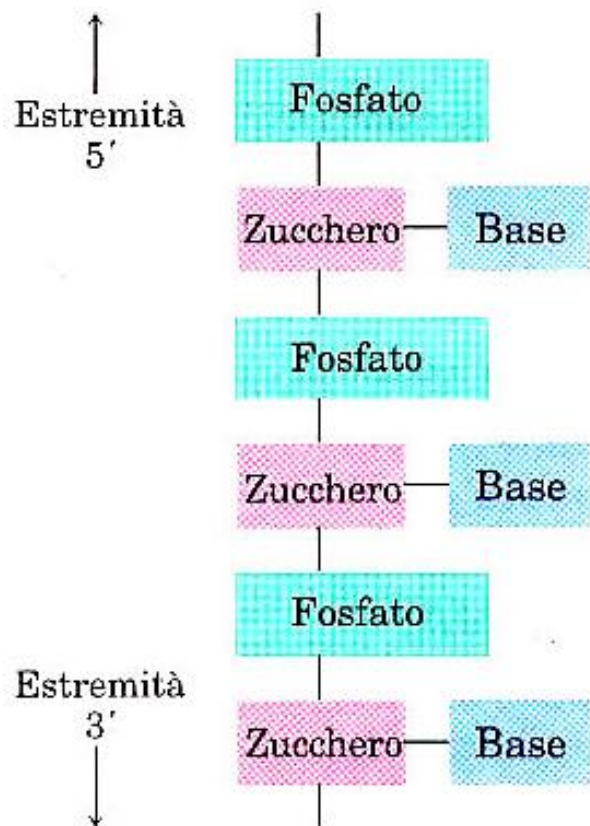


Unità ripetitiva
dell'acido ribonucleico (RNA)



Unità ripetitiva
dell'acido deossiribonucleico (DNA)

Sia il DNA che l'RNA sono polinucleotidi. I monomeri differiscono per l'unità carboidratica in essi contenuta che risulta essere ribosio per l'RNA e 2'-deossiribosio per il DNA (gli atomi di C degli zuccheri sono indicati con 1', 2', 3' ecc. per differenziarli dagli atomi di C delle basi). Se tolgo il fosfato al nucleotide ottengo il **nucleoside** (zucchero + base)



Struttura schematica del DNA.

Nel polimero il collegamento tra i nucleotidi è realizzato da gruppi fosfato che formano legami esterei con il gruppo OH del C in 5' di un monomero e con il gruppo OH del C in 3' di un secondo nucleotide. Gli acidi nucleotidici possiedono dunque legami fosfodiesteri.

In questo modo vengono costruite catene contenenti anche miliardi di unità nucleotidiche.

Il gruppo fosforico è un acido forte con pK_a di circa 1 da cui la denominazione di acidi ribonucleici e deossiribonucleici.

A pH fisiologico ogni **nucleotide è carico negativamente**.

I gruppi fosfato e le unità carboidratiche costituiscono la struttura ripetitiva del polimero ma essendo invarianti non rappresentano la porzione in grado di trasmettere informazioni.

Il ruolo di custodi dell'informazione viene svolto dagli acidi nucleici grazie alla diversità delle basi inserite nei vari nucleotidi (eteropolimeri).

Il nucleotide presenta legata al C1' dello zucchero un composto basico.

Basi eterocicliche

Basi **puriniche** (in azzurro) e basi **pirimidiniche** (in arancio).

Le basi vengono indicate tramite **codice ad una lettera**.

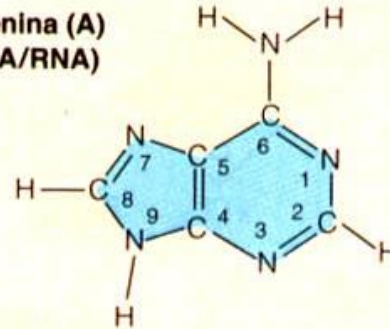
Il DNA contiene adenina, guanina, citosina e timina mentre l'RNA contiene adenina, guanina, citosina e uracile.

DNA e RNA sono polimeri costituiti di 4 tipi di 4 monomeri nucleotidici diversi.

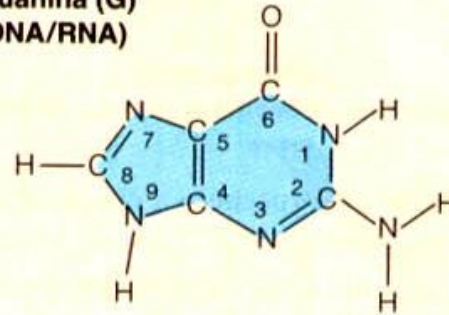
Le purine legano il C 1' con l'azoto 9 mentre le pirimidine legano il C in 1' con l'azoto 1.

PURINE

Adenina (A)
(DNA/RNA)

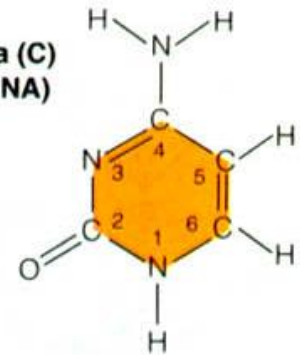


Guanina (G)
(DNA/RNA)

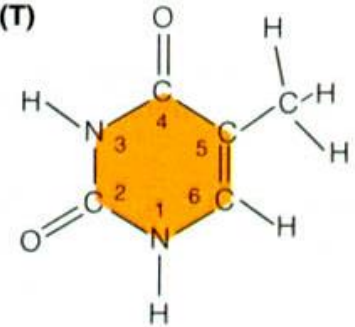


PIRIMIDINE

Citosina (C)
(DNA/RNA)



Timina (T)
(DNA)



Uracile (U)
(RNA)



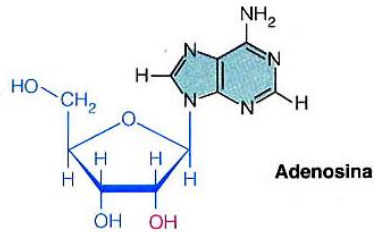
Nucleotidi e nucleosidi

I nucleotidi indicati rappresentano le unità ripetitive dell'RNA.

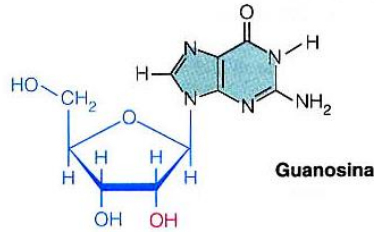
Il sistema base+zucchero viene definito nucleoside.

I nucleotidi sono nucleosidi 5'-monofosfati.

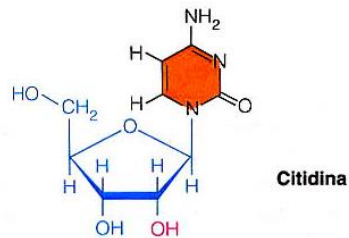
NUCLEOSIDI



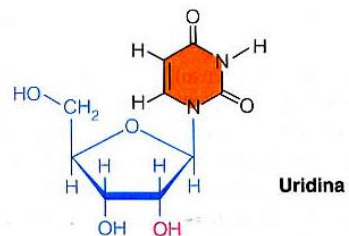
Adenosina



Guanosina

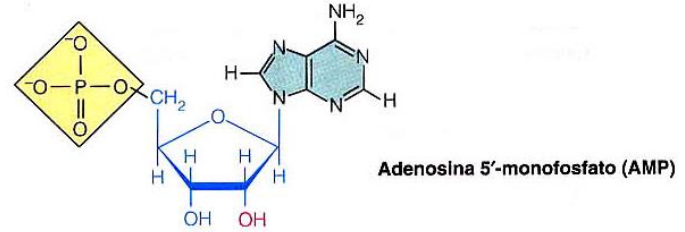


Citidina

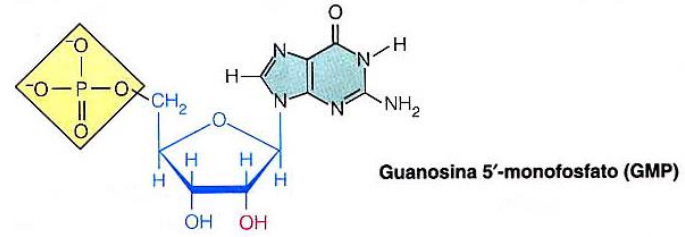


Uridina

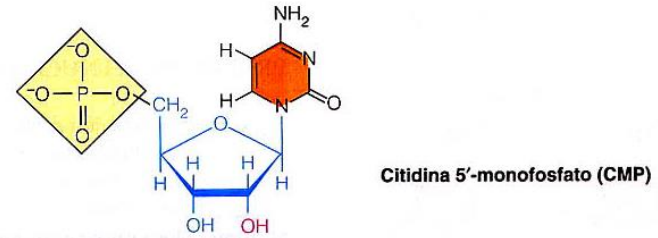
NUCLEOTIDI



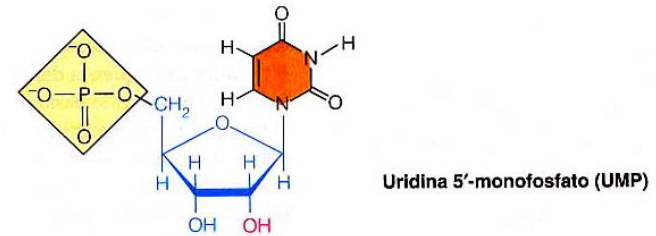
Adenosina 5'-monofosfato (AMP)



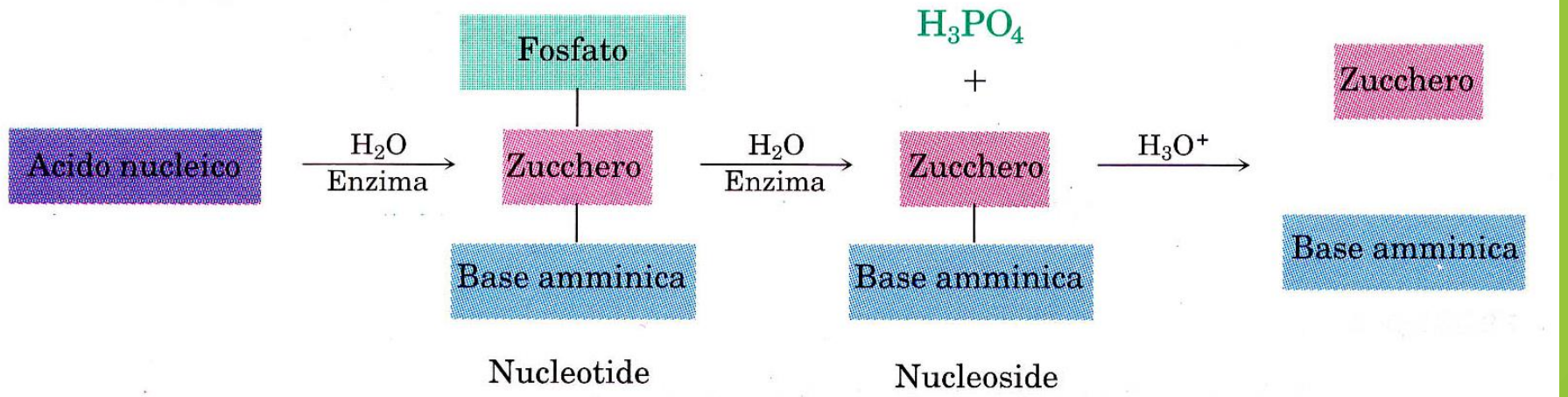
Guanosina 5'-monofosfato (GMP)



Citidina 5'-monofosfato (CMP)



Uridina 5'-monofosfato (UMP)



Proprietà dei nucleotidi:

- sono acidi molto forti;
- le basi presentano sistemi coniugati per cui assorbono nell'UV.

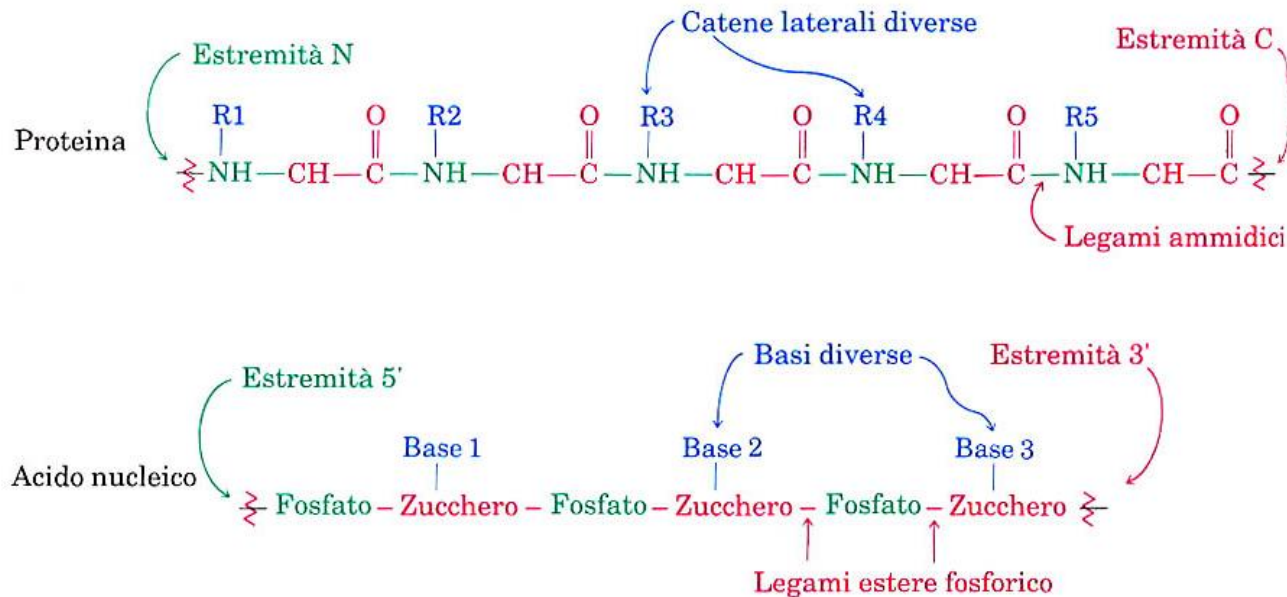
Stabilità del legame fosfodiesterico:

L'idrolisi di un polinucleotide è un processo termodinamicamente favorito ma avviene molto lentamente a meno che la reazione non venga catalizzata. Questo assicura una sufficiente stabilità al polimero per fungere da depositario dell'informazione genetica.

Il DNA è comunque instabile in soluzioni acide mentre l'RNA è instabile sia in soluzioni acide che alcaline.

Struttura primaria

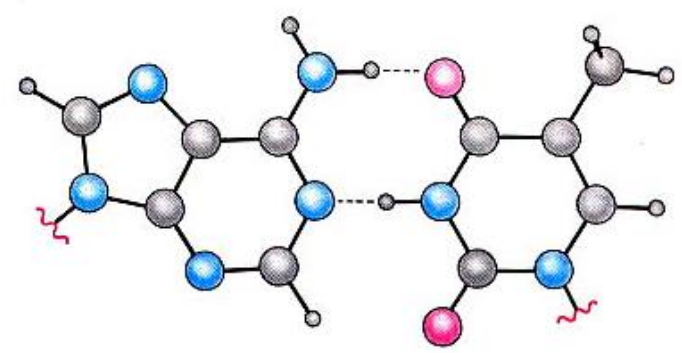
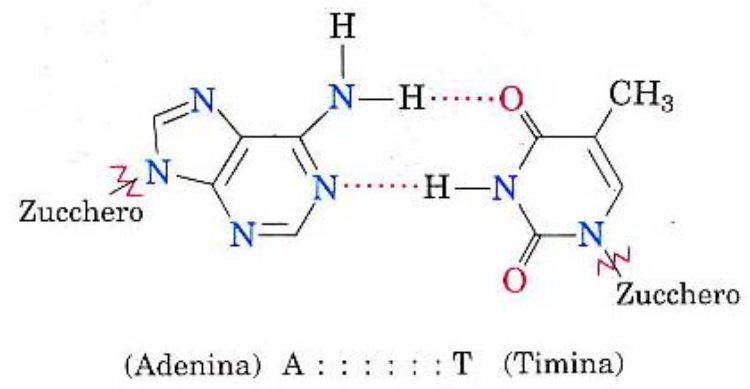
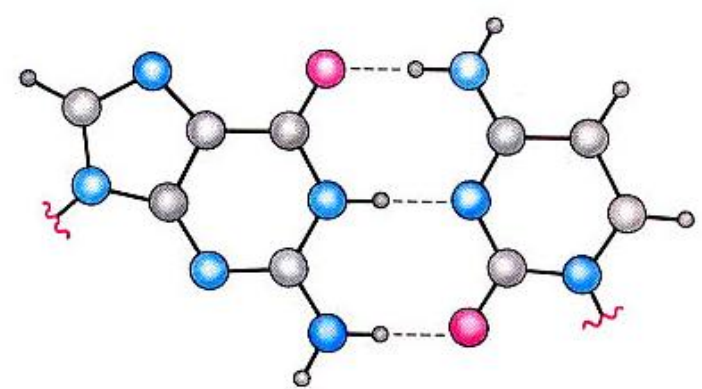
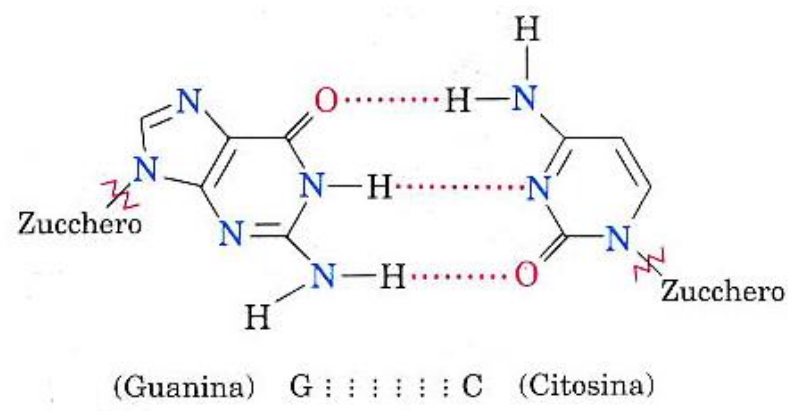
La catena polinucleotidica possiede un verso. Per convenzione si legge dal terminale 5' libero al terminale 3' libero



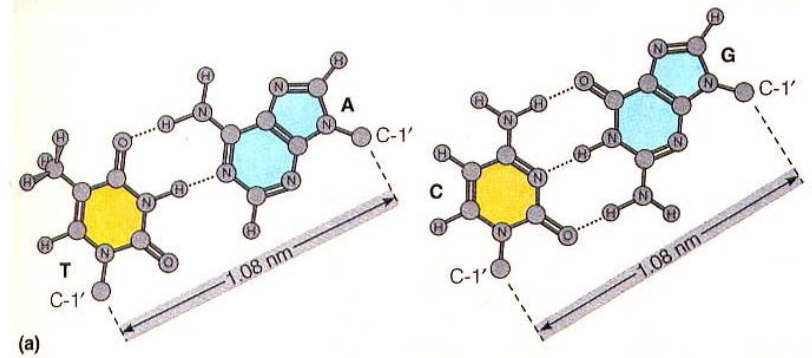
La sequenza nucleotidica costituisce la particolare struttura primaria di un dato polinucleotide. Spesso, visto che la parte che reca l'informazione nel nucleotide è la base, si indica la sequenza dei nucleotidi attraverso la sequenza delle basi (ad es. ACGTT). La lunghezza dell'elica di DNA viene spesso espressa in bp (base pairs) o per comodità in coppie di kilobasi (ad es. il cromosoma circolare dell'*Escherichia coli* contiene 4'600 kb mentre il genoma umano contiene 3'200'000 kb ovvero $3,2 \cdot 10^9$ coppie di basi di DNA).

Struttura secondaria e terziaria degli acidi nucleici

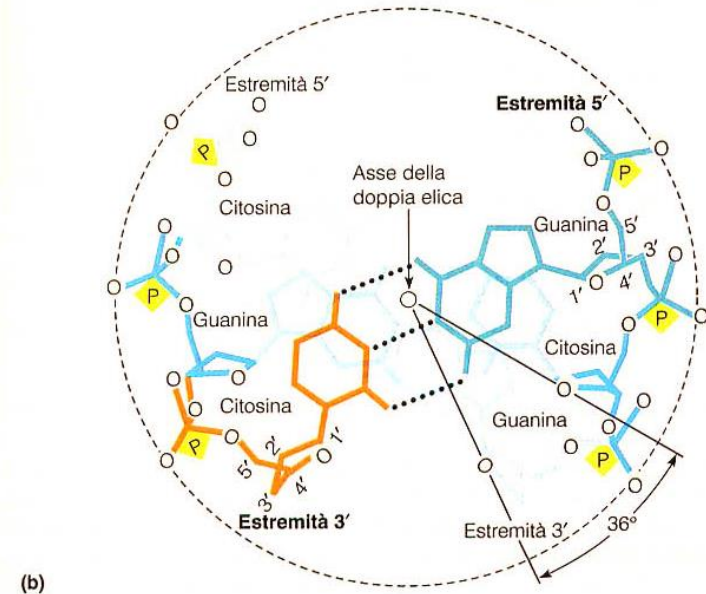
Nel 1953 **Watson e Crick** analizzando dati di diffrazione a raggi X di campioni di DNA, scoprirono che due filamenti di DNA si associavano in una struttura elicoidale destrorsa caratterizzata da 10 residui per giro. La loro grande intuizione fu però capire che questa struttura era stabilizzata da legami a ponte di H tra le basi interfacciate appartenenti ciascuna a un distinto filamento. **I ponti a H si formavano solo accoppiando adenina con timina e guanina con citosina.** In questo modo i due filamenti risultano complementari (non uguali) e ciascuno può fungere da stampo per l'altro. I due filamenti sono antiparalleli.



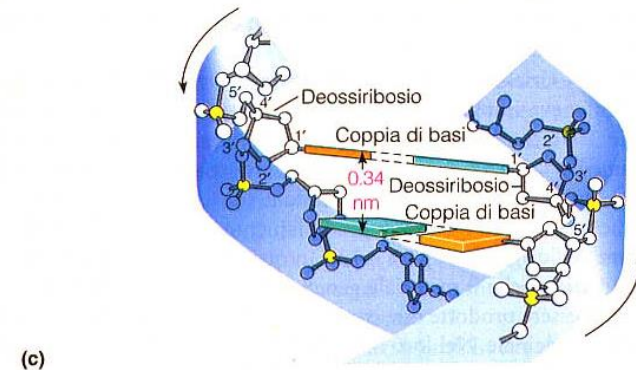
- a. Appaiamento delle basi di due filamenti secondo il modello di Watson e Crick (A con T e C con G).
Accoppiamento purina + pirimidina.



- b. Coppie di basi impilate nella struttura della doppia elica vista dall'alto. Ciascuna coppia risulta ruotata di 36° rispetto alla successiva



- c. Visione laterale della doppia elica



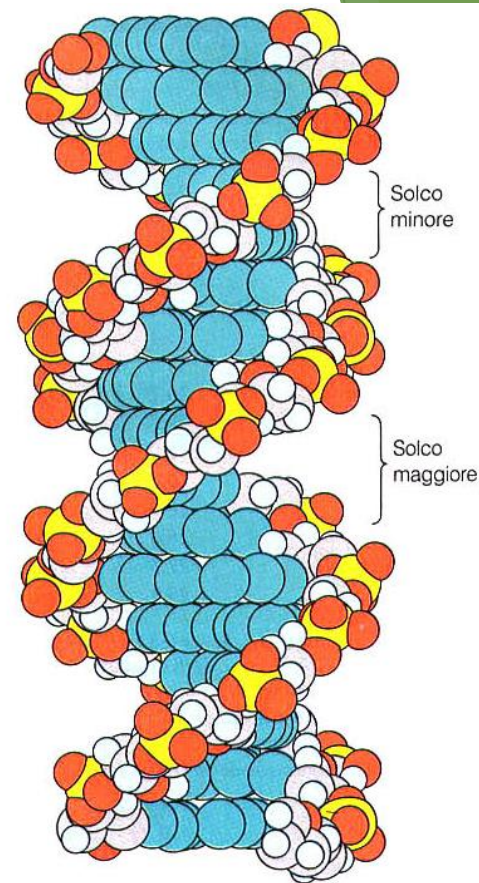
La porzione idrofilica di fosfato e deossiribosio dell'elica si trova all'esterno a interagire favorevolmente con il mezzo acquoso mentre le basi si trovano all'interno su piani perpendicolari rispetto all'asse dell'elica, impilati gli uni sugli altri. Tra le basi di piani consecutivi si instaurano interazioni di Van der Waals dette “**interazioni di impaccamento**”.

Sebbene le basi siano all'interno della doppia elica possono essere raggiunte attraverso due profondi solchi detti solco maggiore e solco minore.

La costruzione di modelli molecolari di strutture a doppia elica di DNA convinse Watson e Crick che i due filamenti dovevano essere orientati in direzioni opposte.

Il DNA fornisce una doppia elica destrorsa.

I due filamenti di DNA della doppia elica sono **complementari** nel senso che A si accoppia sempre con T e C sempre con G. Se i filamenti vengono separati, sfruttando la specificità dell'accoppiamento, può essere rigenerata la metà dell'elica mancante. In questo consiste la **capacità di autoreplicazione** che il materiale genetico deve possedere: quando una cellula si divide le cellule figlie devono possedere la stessa dote in materiale genetico.



Legenda:

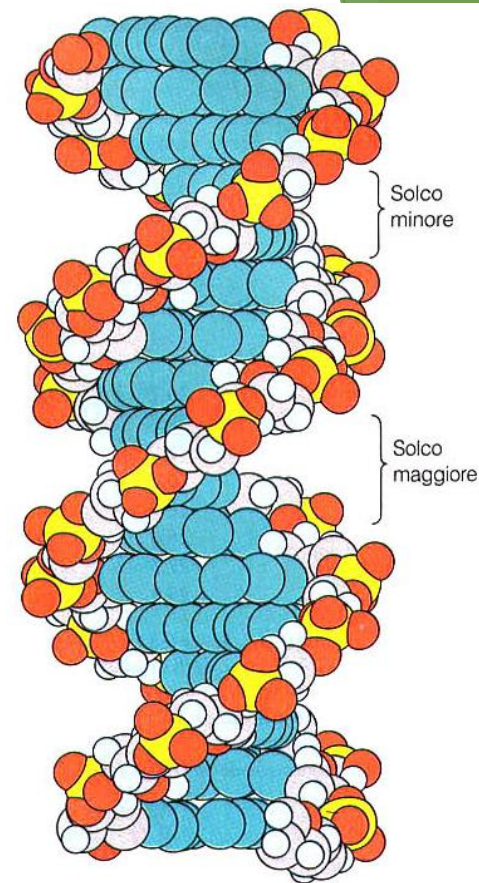
- H
- O
- C nella catena fosfodiesterica
- C e N nelle basi
- P

La doppia elica è stabilizzata da forze deboli

Interazioni presenti:

- Interazioni di impaccamento
- Legami a ponte d'idrogeno (A con T, C con G)
- Effetti idrofobici

Interazioni carica-carica La repulsione elettrostatica tra i gruppi fosfato dei due filamenti è fonte di instabilità per l'elica. La repulsione viene minimizzata da cationi come Mg^{++} o da proteine basiche (contenti Lys e Arg).

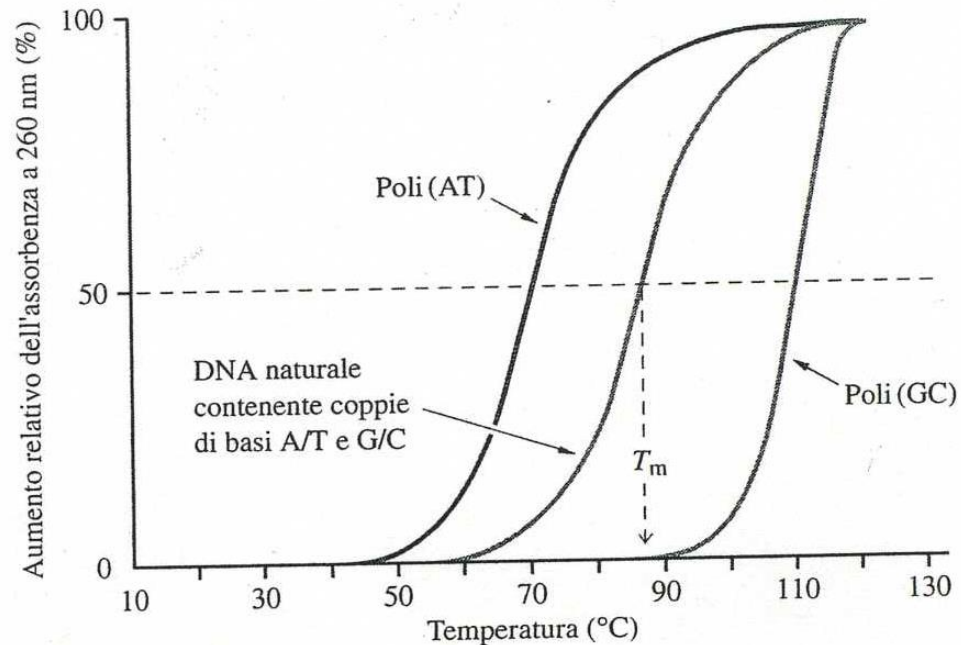
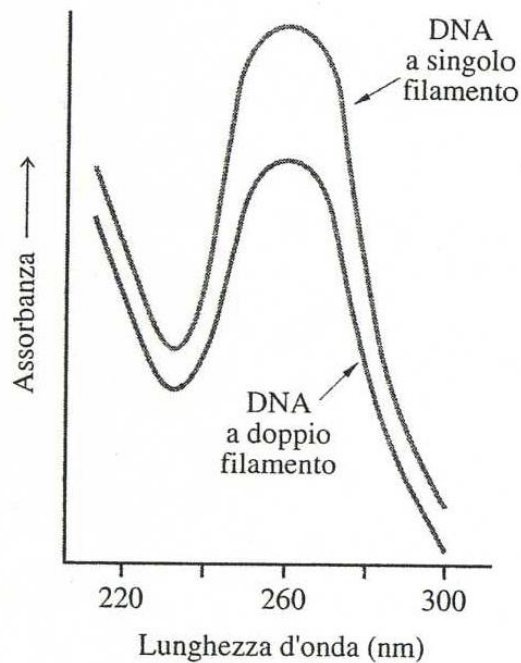


Legenda:

- H
- O
- C nella catena fosfodiesterica
- C e N nelle basi
- P

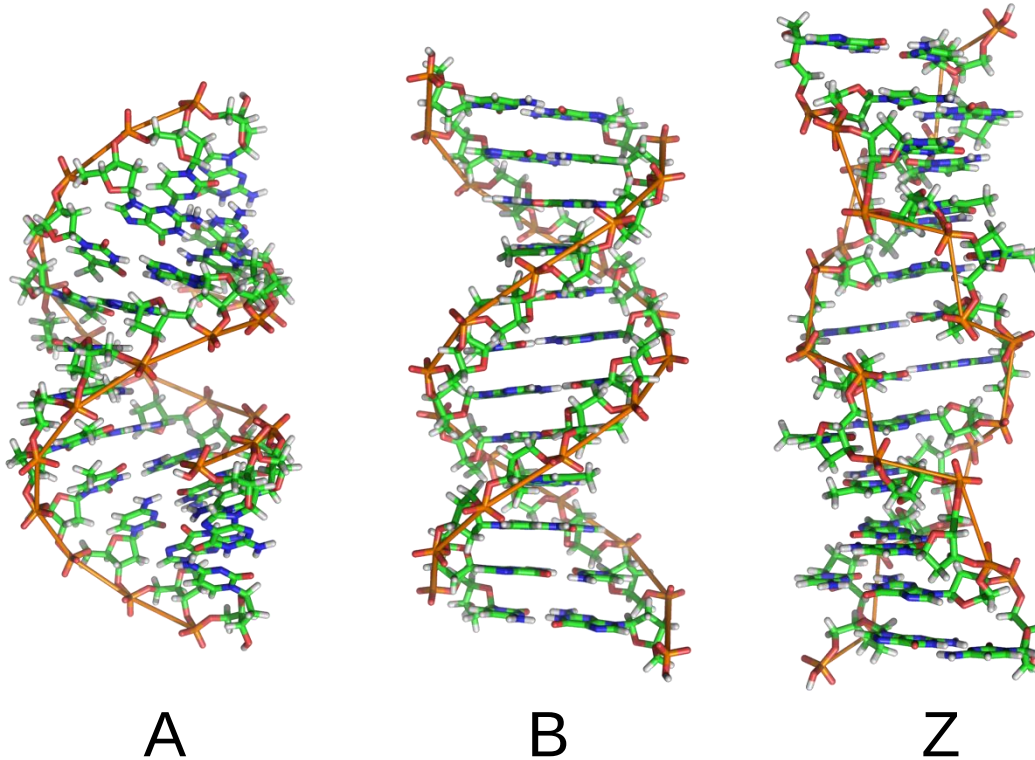
In condizioni fisiologiche il DNA a doppio filamento è più stabile dei due filamenti separati.

La **denaturazione del DNA** può essere termica o indotta da agenti caotropici (urea o cloruro di guanidinio). La temperatura alla quale il 50% del DNA è ancora a doppia elica mentre il rimanente è in a singolo filamento si dice **T_m** (punto di fusione). Si può seguire la denaturazione registrando la variazione di assorbimento a 260 nm: i filamenti separati assorbono più (dal 12 al 40% in più) di quelli in doppia elica. Nella curva di fusione si nota come la temperatura di fusione di poli(AT) è bassa rispetto a quella di poli(GC): la differenza riflette il diverso numero di legami a H.



Conformazioni del DNA a doppia elica

Quanto descritto finora si riferisce alla conformazione B del DNA a doppia elica. Esistono altre conformazioni dette A e Z.



La conformazione A è propria del DNA disidratato, la Z si forma con particolari sequenze, è un'elica sinistrorsa e priva di solchi.

Il Genoma

Ogni organismo porta all'interno delle proprie cellule almeno una copia dell'intera informazione genetica di cui ha bisogno detta genoma.

Normalmente l'informazione genetica è codificata nel DNA a doppio filamento anche se alcuni virus utilizzano l'RNA. Il genoma umano è costituito da 3'200'000'000 coppie di basi distribuite in **23 coppie di cromosomi** (46 cromosomi: 22 coppie di autosomi (in ciascuna coppia un cromosoma è paterno e uno materno) e 2 cromosomi sessuali-eterosomi).

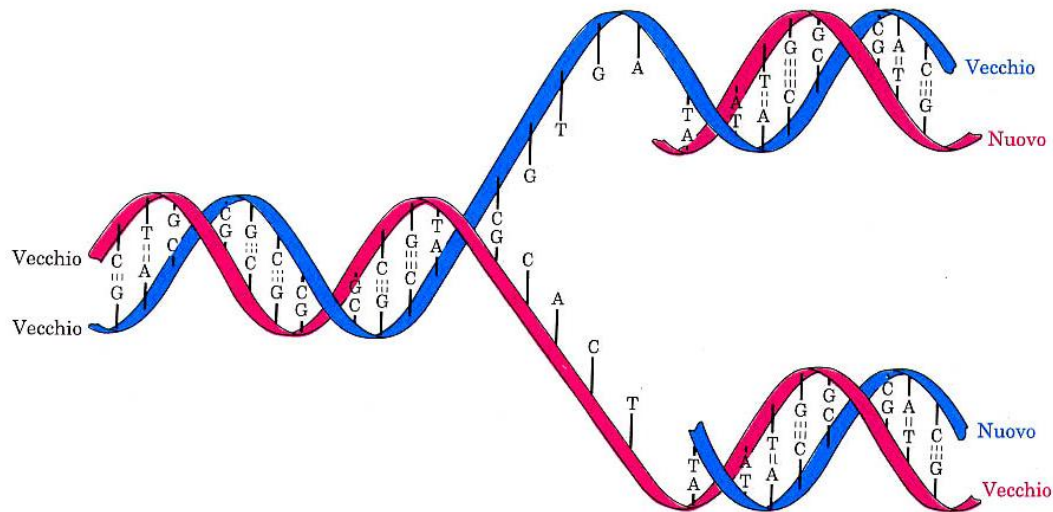
In ogni organismo una percentuale di DNA genomico è suscettibile di essere trascritta ovvero letta in modo da rendere possibile la sintesi di RNA e quindi di proteine. Le sequenze che possono essere trascritte si dicono **geni**.

Il DNA di tutte le cellule di un organismo contiene almeno una copia di geni che portano le informazioni per la sintesi di tutte le proteine di cui tale organismo ha bisogno.

Il DNA può essere sequenziato con metodo chimico o enzimatico.

La Replicazione

La replicazione permette di ottenere da un filamento a doppia elica di DNA due filamenti identici al primo. Il processo ha un'accuratezza elevata (meno di un errore ogni 10^8 basi). Quando occasionalmente il meccanismo si inceppa dà vita a **mutazioni**, le quali hanno permesso l'evoluzione della specie. La replicazione viene guidata da un complesso di enzimi (DNA polimerasi). Velocità : 1000bp al secondo (*E. coli*)

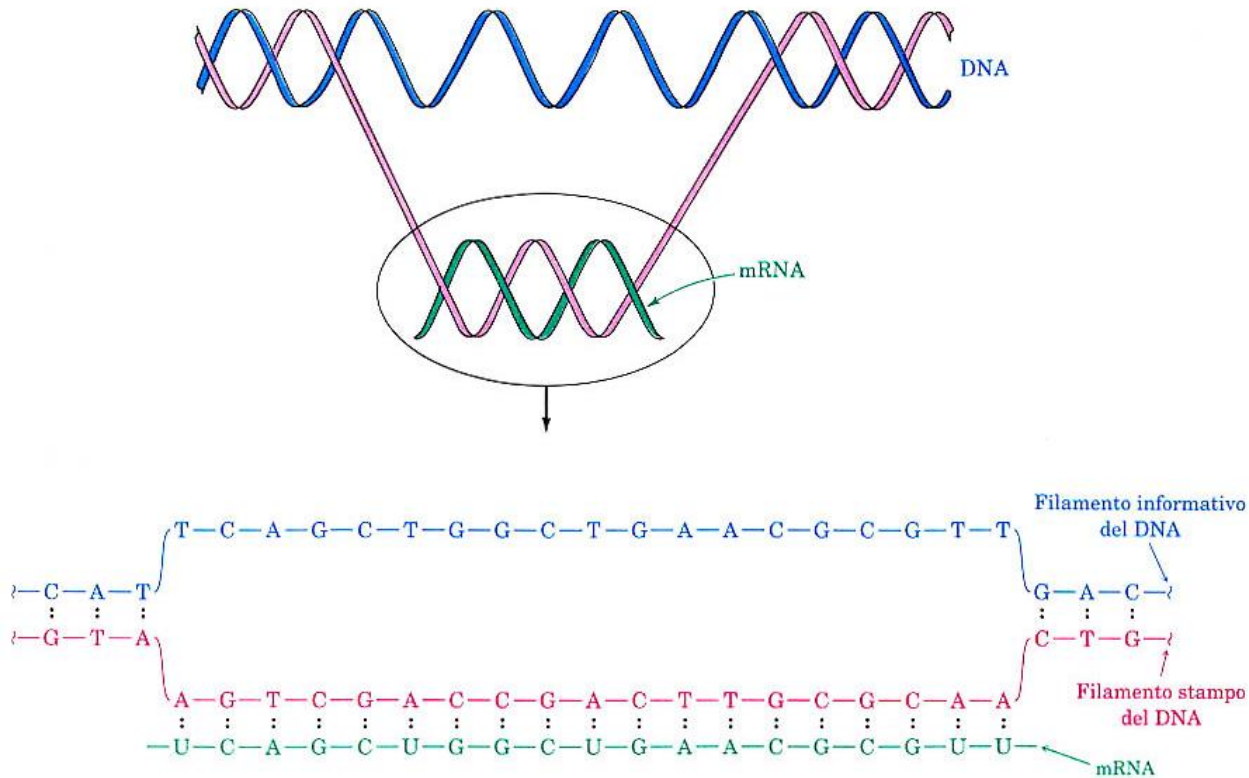


Rappresentazione schematica della replicazione del DNA.

Il meccanismo di copiatura del DNA comporta lo srotolamento dei due filamenti che compongono l'elica, ciascuno dei quali diviene stampo per la sintesi di un nuovo filamento, complementare al filamento parentale. Questa modalità di replicazione è detta semiconservativa.

La Trascrizione

La trascrizione copia il DNA in RNA. L'espressione dell'informazione genetica inizia con la trascrizione dei geni in una molecola complementare di RNA.



Biosintesi dell'RNA su un segmento di DNA che funge da stampo.

La Traduzione

L'RNA ottenuto dalla trascrizione (mRNA) costituisce lo stampo per la sintesi delle proteine. Tuttavia visto che le proteine sono composte di 20 residui mentre gli acidi nucleici sono ottenuti da 4 monomeri non può esserci un rapporto 1:1. Proprio per tale motivo è una tripletta di basi (codone) a codificare per un amminoacido.



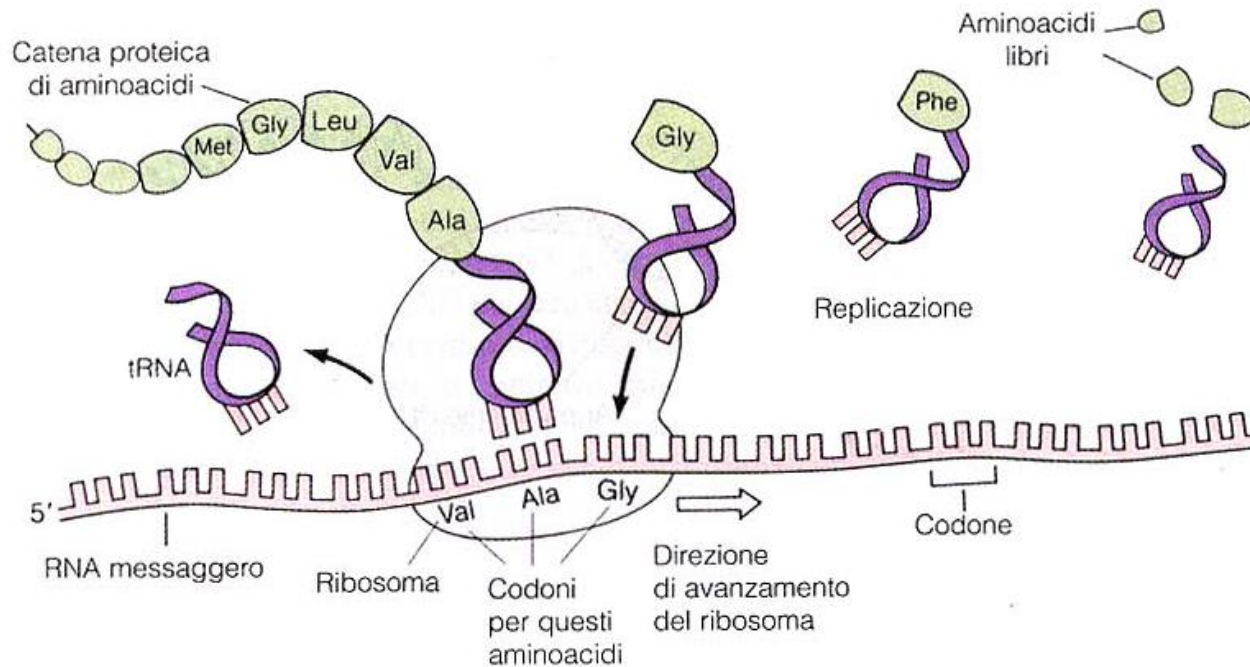
Codice Genetico

Le triplette di basi dei codoni

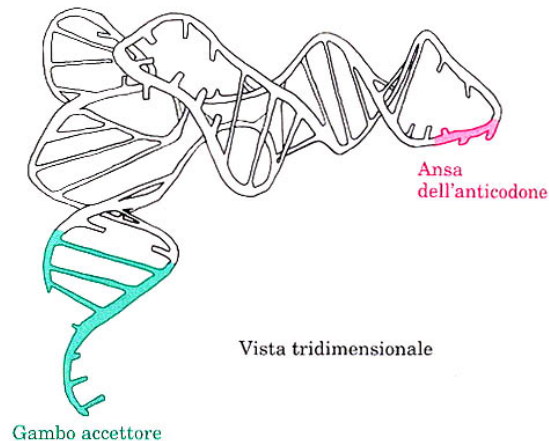
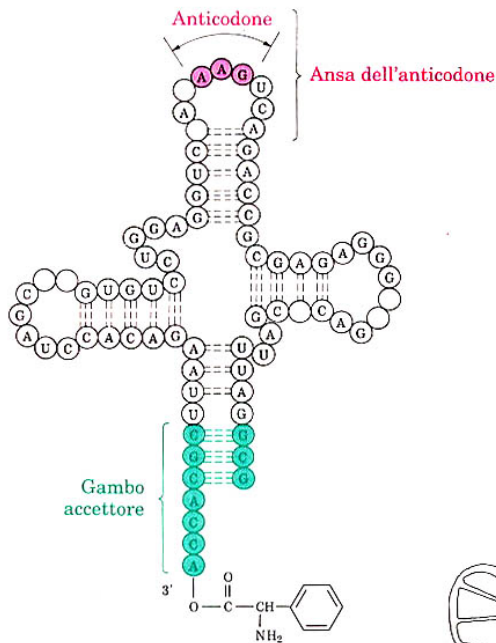
<i>Prima base (estremità 5')</i>	<i>Seconda base</i>	<i>Terza base (estremità 3')</i>			
		<i>U</i>	<i>C</i>	<i>A</i>	<i>G</i>
U	U	Phe	Phe	Leu	Leu
	C	Ser	Ser	Ser	Ser
	A	Tyr	Tyr	Stop	Stop
	G	Cys	Cys	Stop	Trp
C	U	Leu	Leu	Leu	Leu
	C	Pro	Pro	Pro	Pro
	A	His	His	Gln	Gln
	G	Arg	Arg	Arg	Arg
A	U	Ile	Ile	Ile	Met
	C	Thr	Thr	Thr	Thr
	A	Asn	Asn	Lys	Lys
	G	Ser	Ser	Arg	Arg
G	U	Val	Val	Val	Val
	C	Ala	Ala	Ala	Ala
	A	Asp	Asp	Glu	Glu
	G	Gly	Gly	Gly	Gly

La Traduzione

Anche se tutte le informazioni richieste per la sintesi proteica sono contenute nel DNA, la produzione di proteine non procede direttamente dal DNA ma utilizza come intermediari più tipi di RNA. La trascrizione fornisce lo stampo di RNA (mRNA – RNA messaggero). Le molecole di tRNA (RNA transfer) assieme a enzimi e ribosomi traducono le triplette di basi negli amminoacidi.



Una molecola di mRNA si lega ad un ribosoma; le molecole di tRNA portano gli amminoacidi al ribosoma, uno alla volta; ciascun tRNA si lega al codone appropriato sull'mRNA e aggiunge il proprio amminoacido alla catena nascente; il ribosoma scorre lungo la molecola di mRNA fino alla traduzione dell'intera sequenza proteica.



La struttura di una molecola di tRNA. Il tRNA possiede, grossolanamente, la forma di un quadrifoglio che contiene la tripletta di un anticodone su un lobo e un'unità amminoacida legata in via covalente all'estremità 3'. L'esempio illustrato si riferisce a un tRNA di lievito che codifica per la fenilalanina. I nucleotidi non identificati specificamente sono analoghi chimicamente modificati dei quattro nucleotidi normali.