


# NUCLEOTIDI

## RUOLI BIOLOGICI:

- a) Forma di energia utilizzata nel metabolismo cellulare (ATP, GTP)
- b) Entrano a far parte della struttura di cofattori enzimatici (coenzimi) e di intermedi metabolici
- c) Costituiscono gli **ACIDI NUCLEICI**



Hanno la funzione di conservare, trasmettere e modulare l'informazione genetica e di tradurla nella sintesi di proteine.

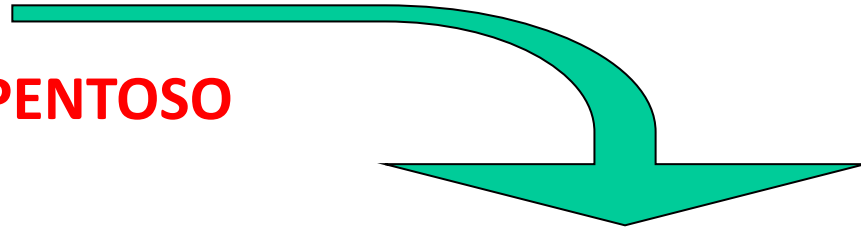
Le informazioni da cui dipende la vita di ogni organismo vivente sono codificate nella sequenza nucleotidica degli acidi nucleici, e sono utilizzate per produrre le proteine, tutte le biomolecole e i vari componenti cellulari.

I nucleotidi sono costituiti da:

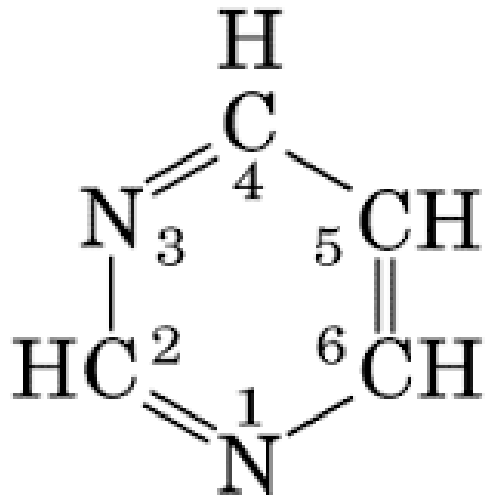
**BASE AZOTATA**

**ZUCCHERO ALDOPENTOSO**

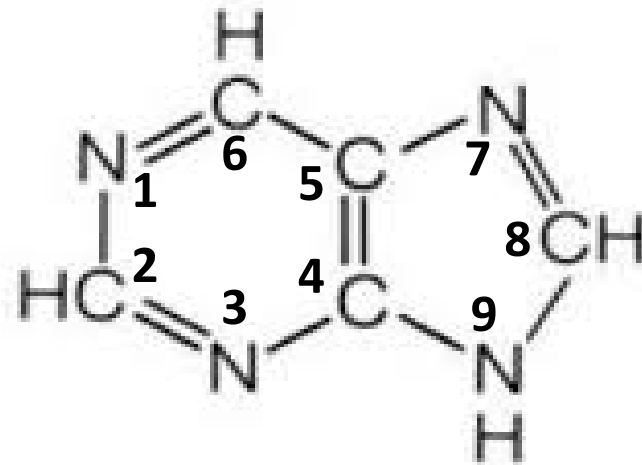
**FOSFATO**



**Composti eterociclici aromatici che derivano da:**

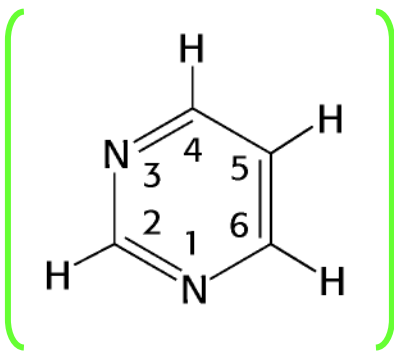


PIRIMIDINA

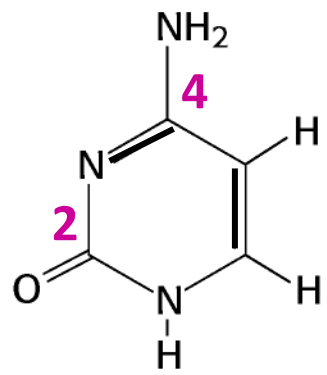


PURINA

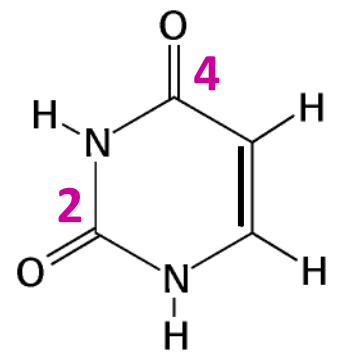
PIRIMIDINE



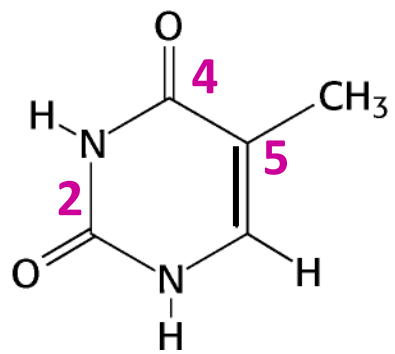
**Pirimidina**



CITOSINA (C)



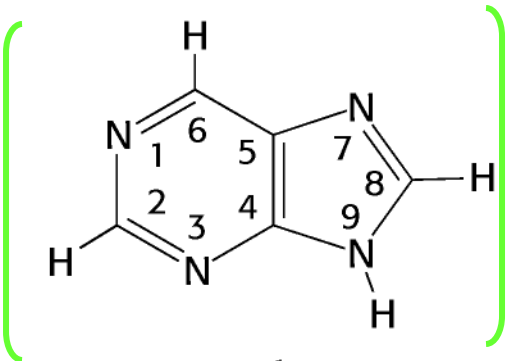
URACILE (U)



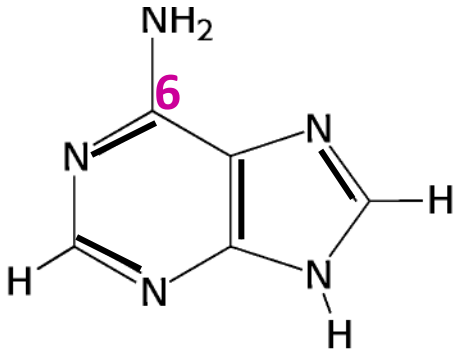
TIMINA (T)

Le basi azotate sono composti idrofobici debolmente basici e poco solubili a pH neutro.

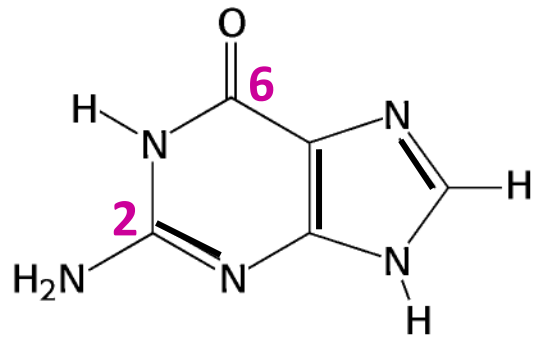
PURINE



**Purina**

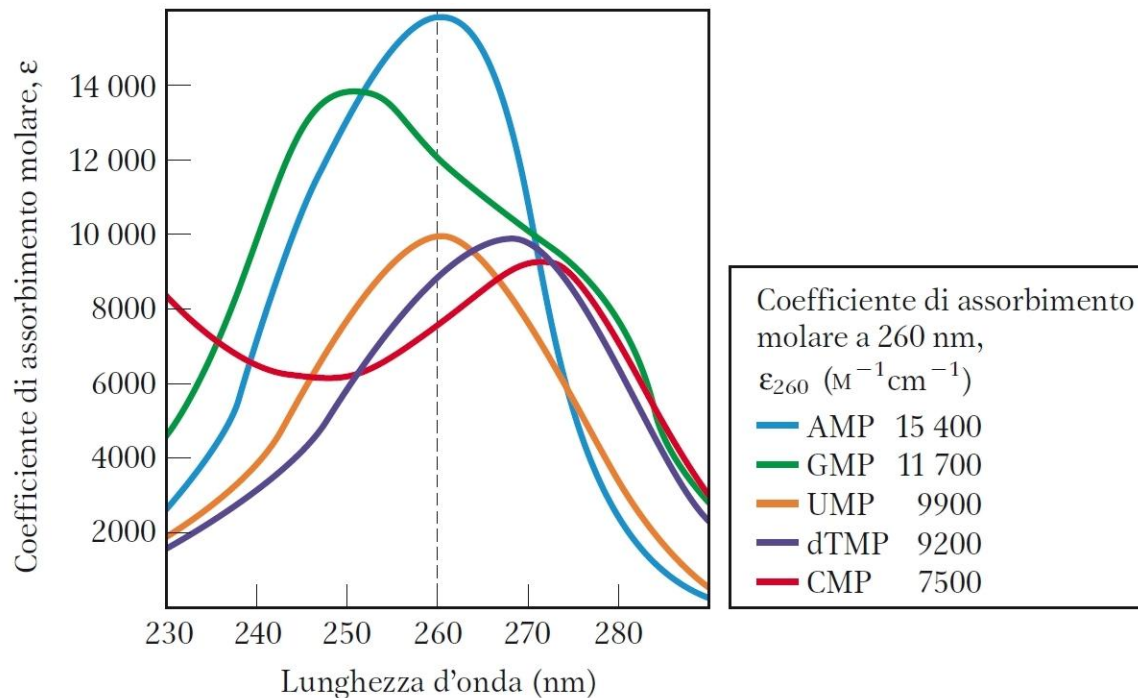


ADENINA (A)



GUANINA (G)

Sono composti altamente **coniugati** e per effetto della risonanza risultano essere **planari** e capaci di **assorbire nell'UV**, hanno un massimo di assorbimento a **260 nm**



**Figura 8.10** Spettri di assorbimento della luce dei principali nucleotidi. Gli spettri di assorbimento sono mostrati sotto forma di variazione del coefficiente di assorbimento molare. I suoi valori ( $\epsilon_{260}$ ), a 260 nm e a pH 7,0, sono riportati nella tabella a fianco. Gli spettri dei corrispondenti ribonucleotidi

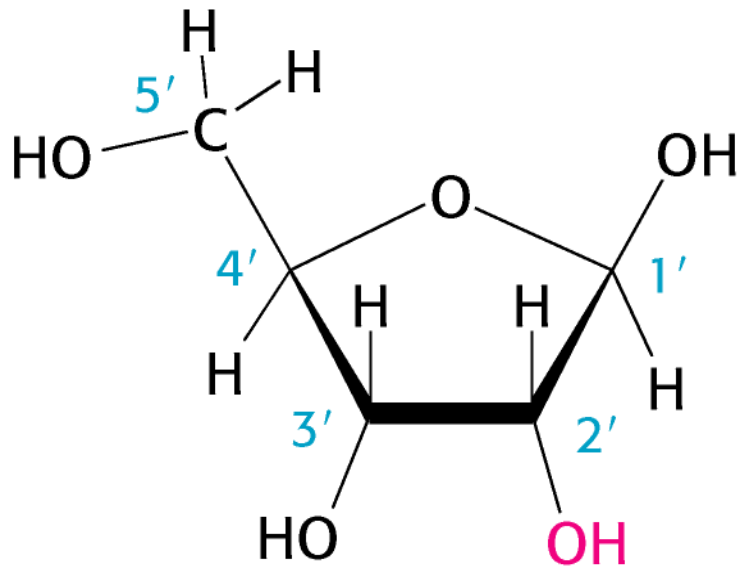
e deossiribonucleotidi, come pure quelli dei nucleosidi, sono essenzialmente identici. Per una miscela di nucleotidi, le misure di assorbimento della luce vengono effettuate usando una luce con una lunghezza d'onda di 260 nm (linea verticale tratteggiata).

Lo **ZUCCHERO** dei nucleotidi è un monosaccaride aldopentoso:

## **D-RIBOFURANOSIO o D-2-DEOSSIRIBOFURANOSIO**

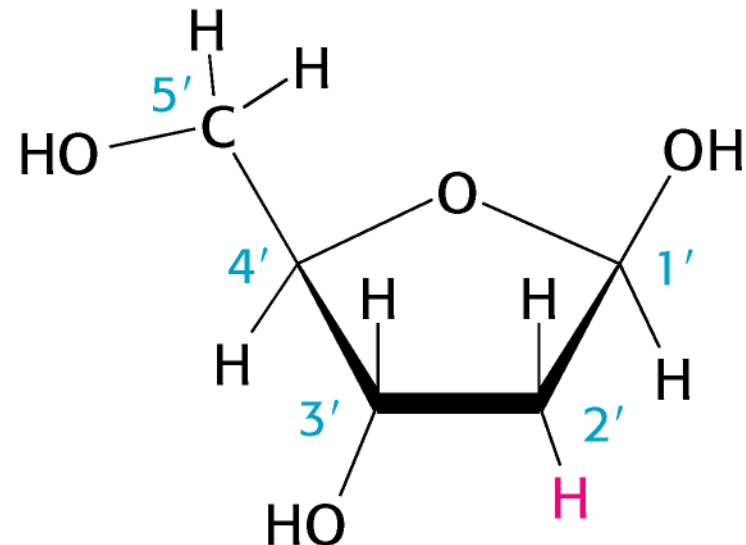
In configurazione  $\beta$  sempre ad anello

(numerazione con numeri apostrofati)



**Ribosio**

Nei ribonucleotidi e  
negli acidi ribonucleici

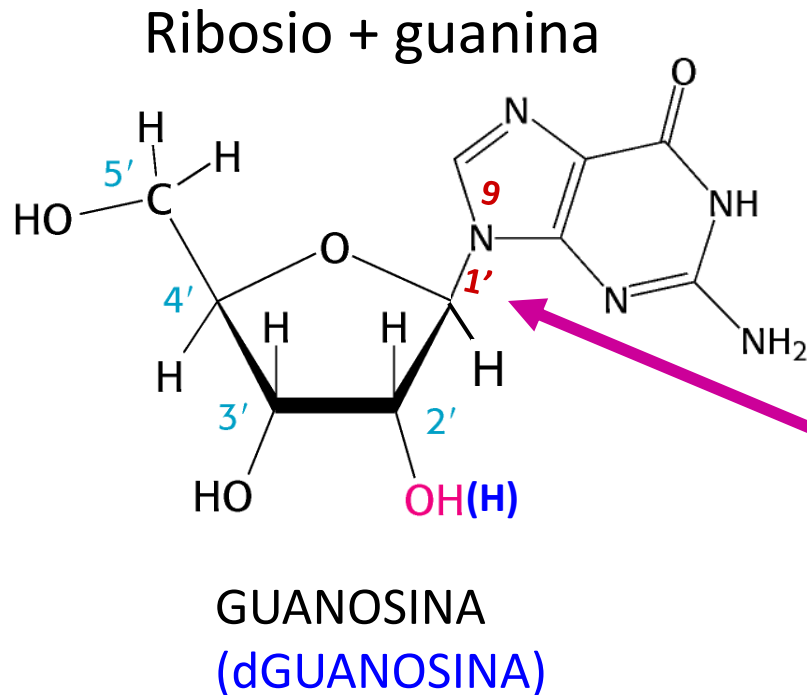


**Deossiribosio**

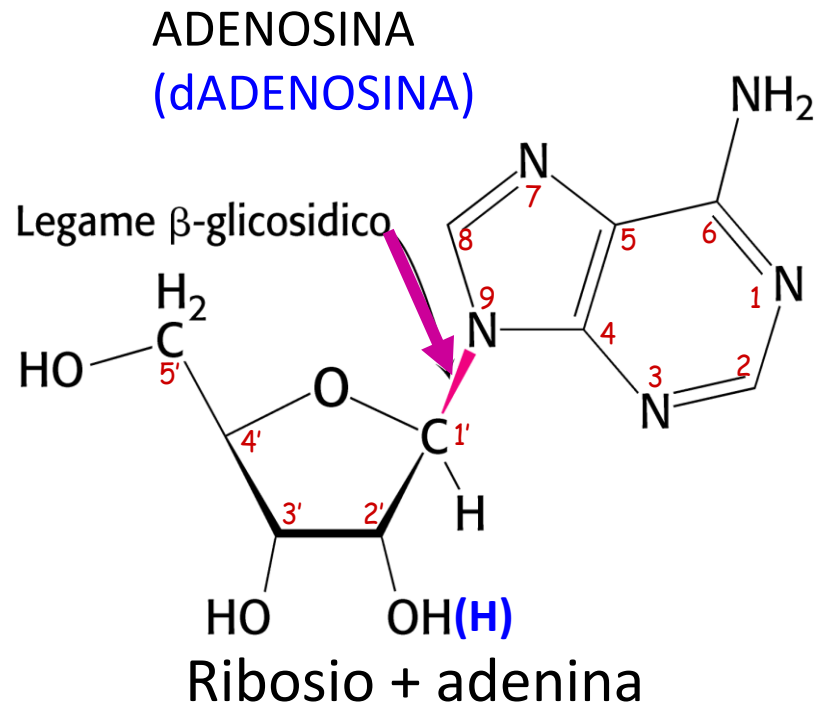
Nei deossi-ribonucleotidi e  
negli acidi deossi-ribonucleici

Quando la base azotata si lega allo zucchero si ottiene un NUCLEOSIDE.

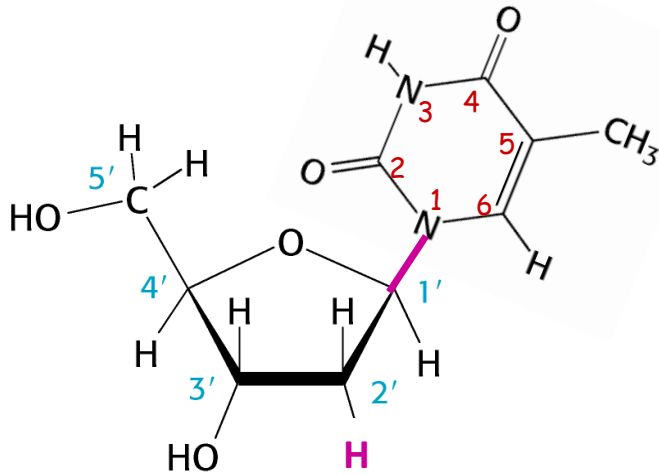
La base azotata è legata allo zucchero tramite un legame  **$\beta$ -N-glicosidico**



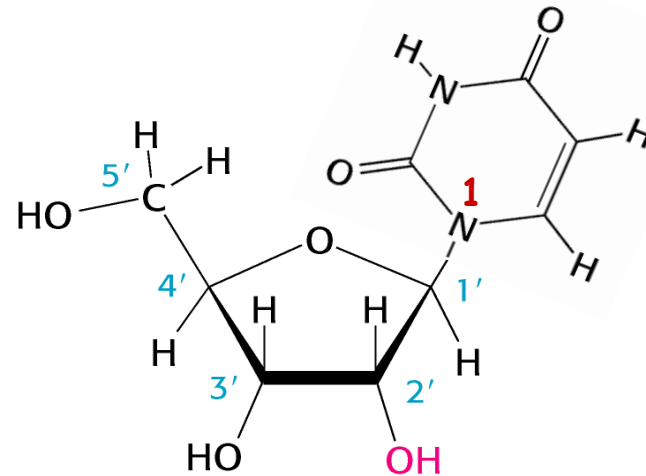
Nucleosidi purinici  
Legame fra il carbonio anomero C-1' del ribosio e l'azoto N-9 della base azotata



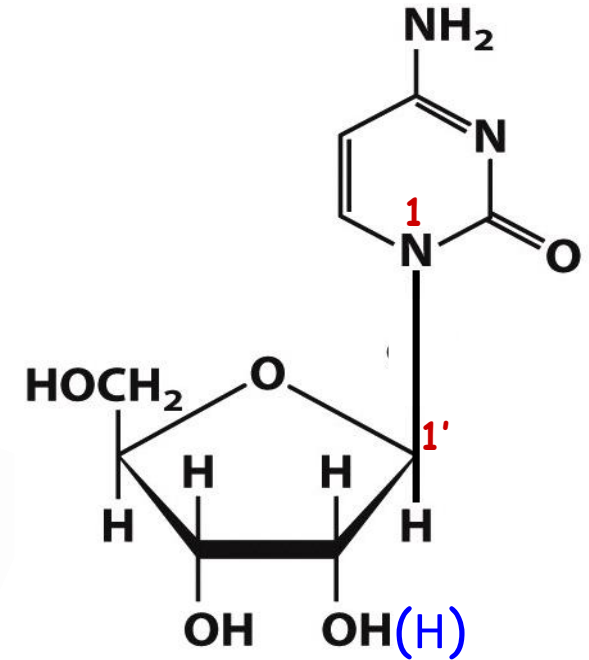
Nucleosidi pirimidinici: si formano dal legame  $\beta$ -N-glicosidico fra il C-1' (anomerico) dello zucchero e l'azoto N-1 della base azotata



**dTIMIDINA**  
La timina si lega solo con il D-2deossi-RIBOSIO



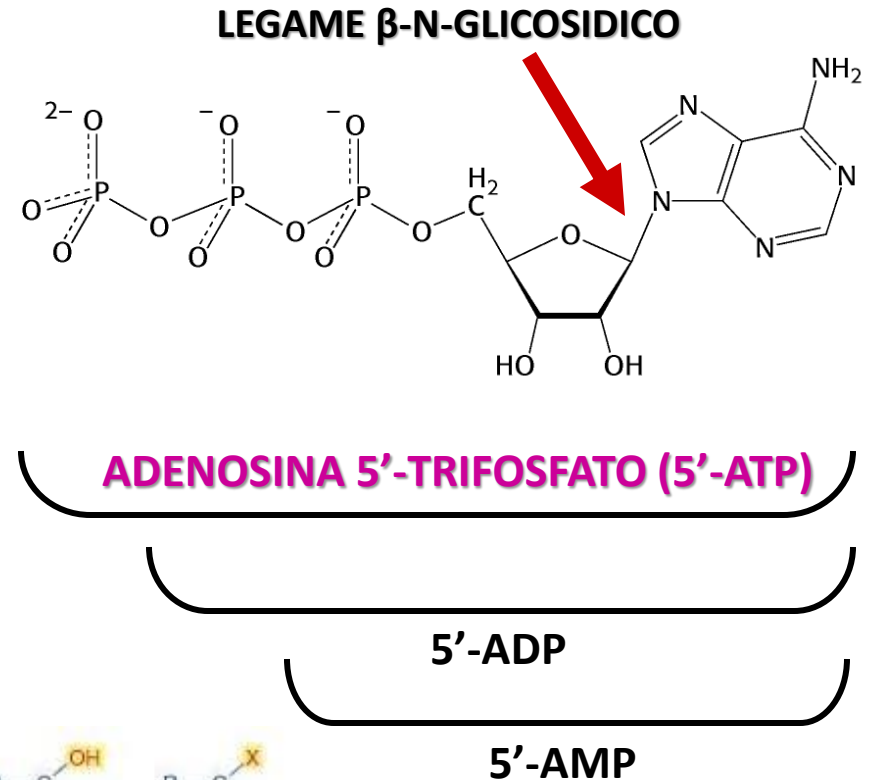
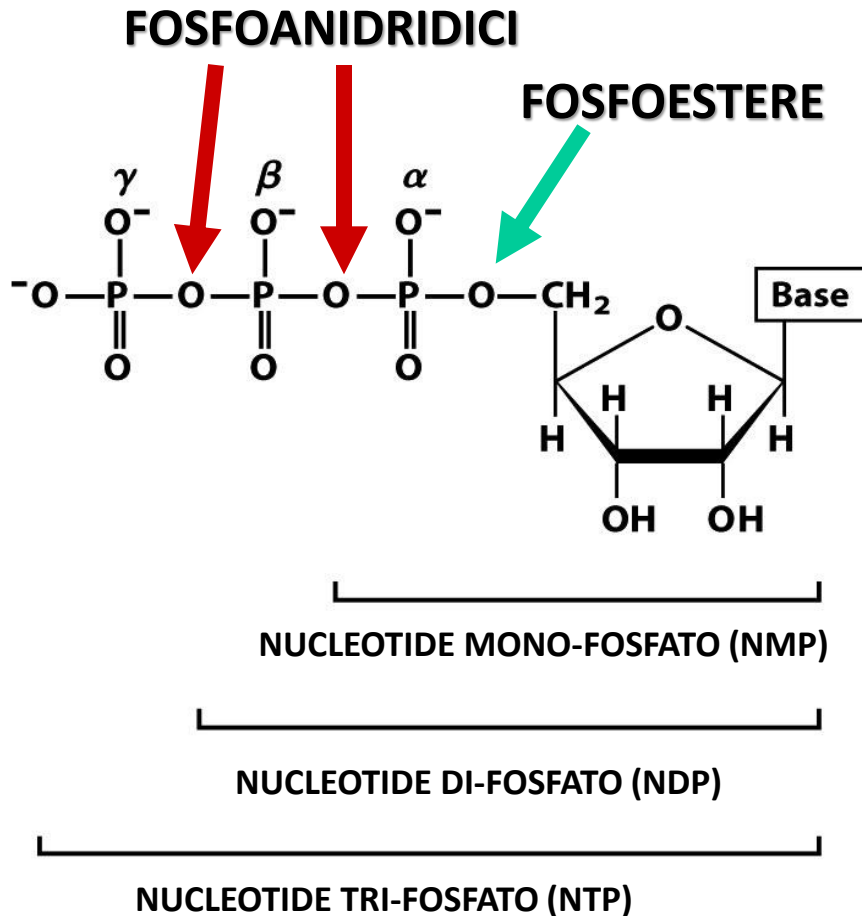
**URIDINA**  
L'uracile si lega solo con il D-ribosio



**CITIDINA**  
Si può legare con RIBOSIO o con 2-deossi-RIBOSIO

# Quando il NUCLEOSIDE è fosforilato si costituisce il NUCLEOTIDE.

IL FOSFATO è legato allo ZUCCHERO tramite un legame FOSFOESTERE con il gruppo alcolico in C-5' del ribosio. Il legame fra il gruppo fosforico  $\alpha$  e quello  $\beta$  e il legame fra il gruppo fosforico  $\beta$  e quello  $\gamma$  sono FOSFOANIDRIDICI, ad alto contenuto energetico.



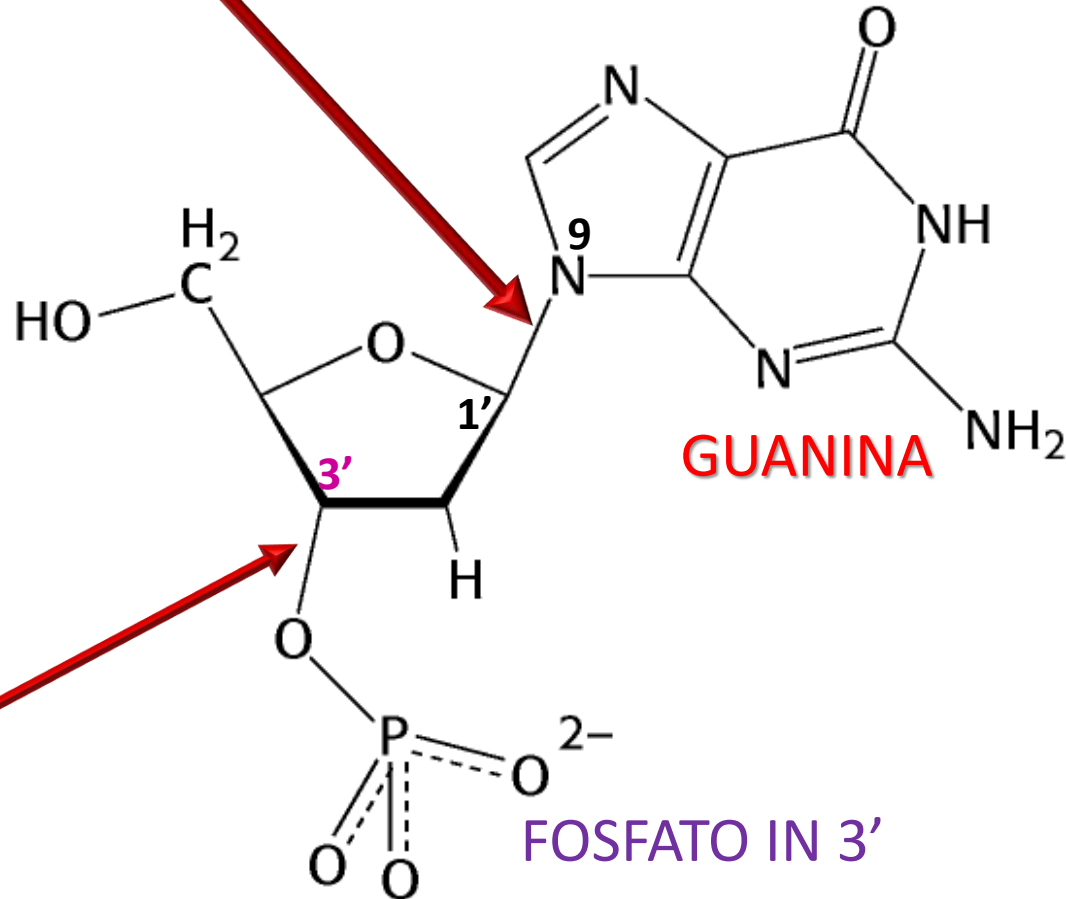
**Figure 8-36**  
*Lehninger Principles of Biochemistry, Fifth Edition*  
© 2008 W. H. Freeman and Company



# Le cellule contengono anche nucleotidi con gruppi P in posizioni diverse: in posizioni diverse:

LEGAME  $\beta$ -N-GLICOSIDICO (1 $\rightarrow$ 9)

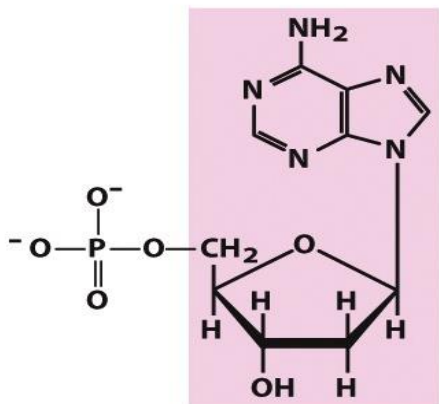
D-deossi-Ribosio



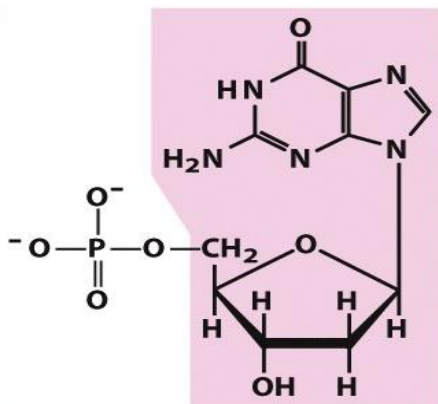
LEGAME ESTERE

FOSFATO IN 3'

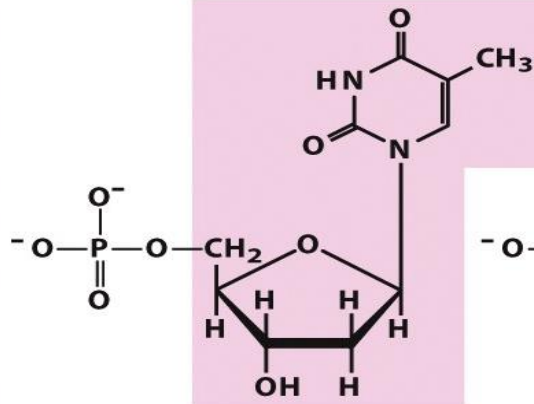
DEOSSIGUANOSINA-3'-  
MONOFOSFATO (3'-dGMP)



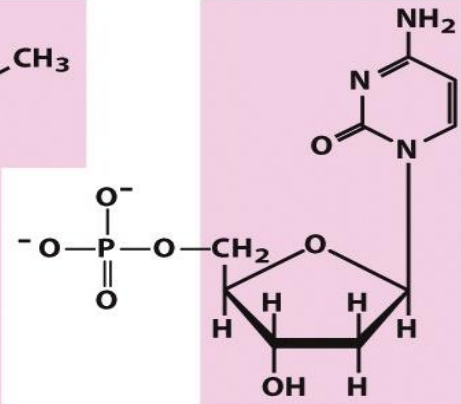
**Deossi-adenosina**  
5'-monofosfato  
A, dA, dAMP



**Deossi-guanosina**  
5'-monofosfato  
G, dG, dGMP

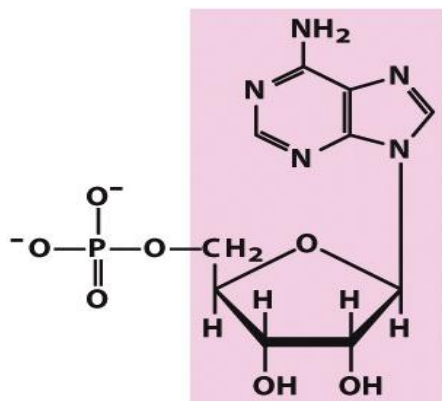


**Deossi-timidina**  
5'-monofosfato  
T, dT, dTMP

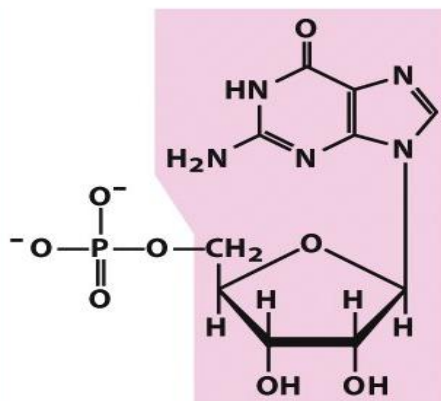


**Deossi-citidina**  
5'-monofosfato  
C, dC, dCMP

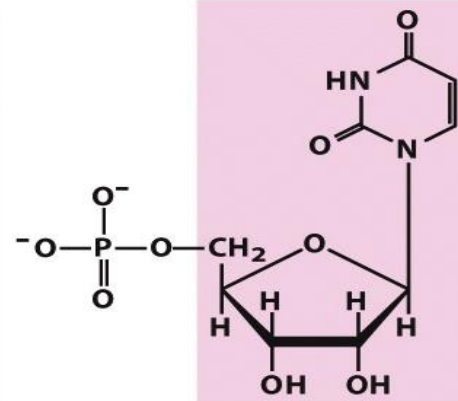
**DEOSSIRIBONUCLEOTIDI 5'-monofosfato**



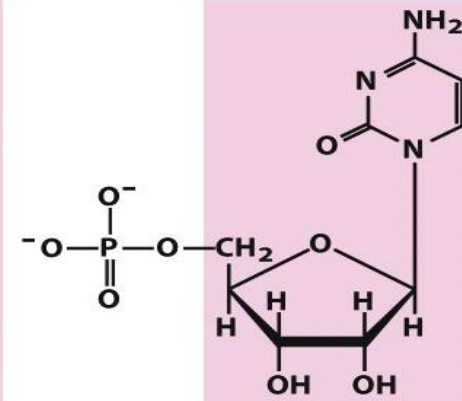
**adenosina**  
5'-monofosfato  
A, AMP



**guanosina**  
5'-monofosfato  
G, GMP



**uridina**  
5'-monofosfato  
U, UMP

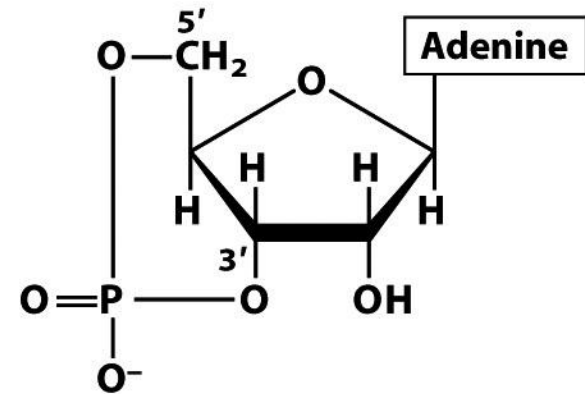


**citidina**  
5'-monofosfato  
C, CMP

**RIBONUCLEOTIDI 5'-monofosfato**

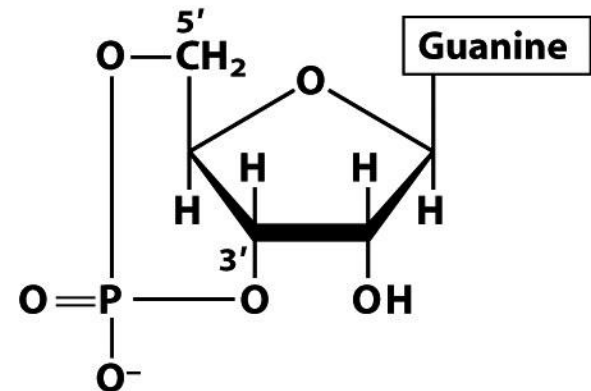
# NUCLEOTIDI MONOFOSFATO CICLICI

Gruppo fosfato si lega il ribosio con 2 legami estere, in 5' e in 3'



AMP ciclico (cAMP)  
Adenosina 3',5'-ciclico-  
monofosfato

Secondi messaggeri cellulari, coinvolti nei processi di trasduzione del segnale.

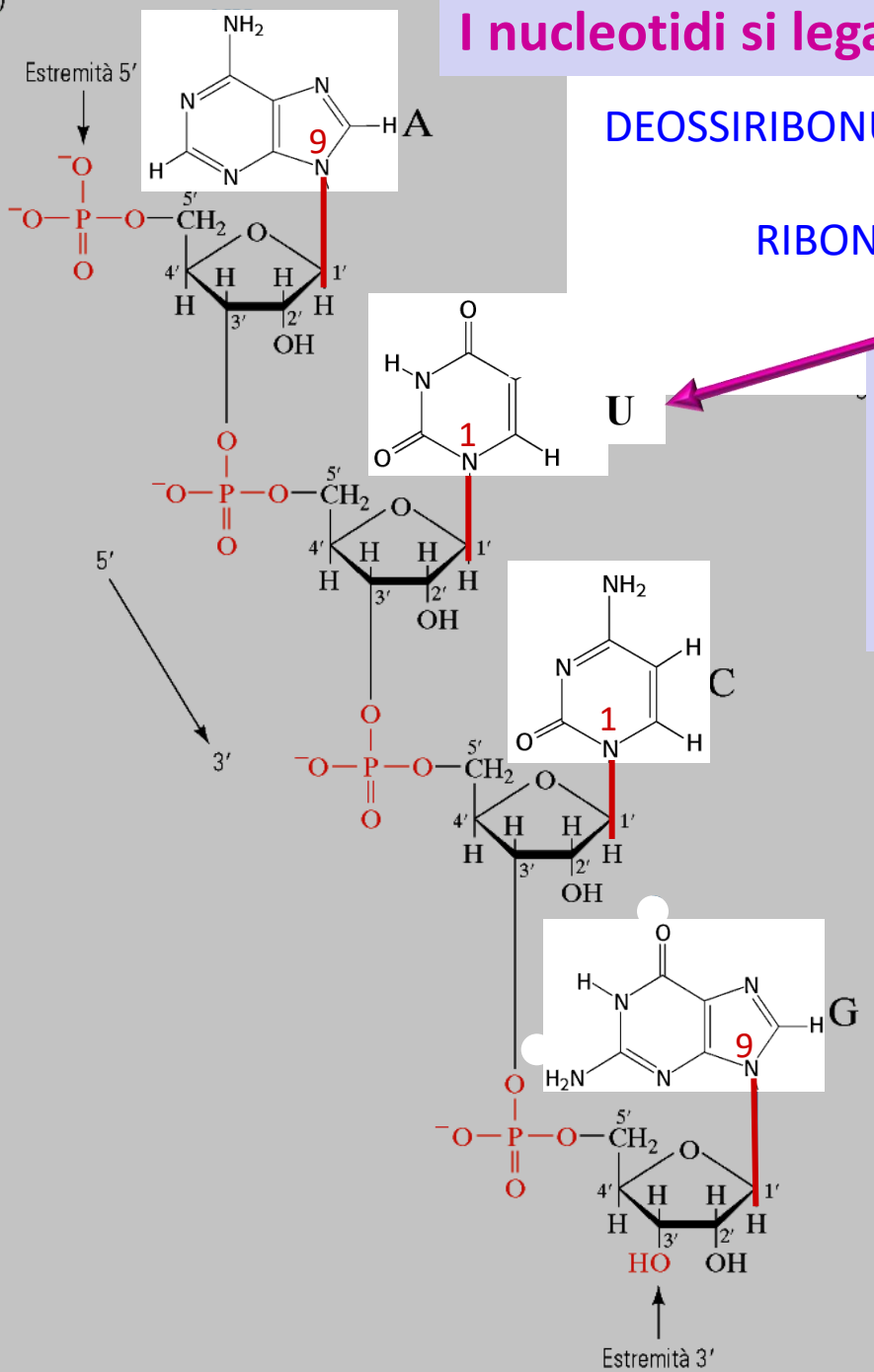


GMP ciclico (cGMP)  
Guanosina 3',5'-ciclico-  
monofosfato

# I nucleotidi si legano tra loro a formare gli ACIDI NUCLEICI

DEOSSIRIBONUCLEOTIDI >>> AC. DEOSSIRIBONUCLEICI (DNA)

RIBONUCLEOTIDI >> AC. RIBONUCLEICI (RNA)



Gli ac. nucleici sono catene di nucleotidi legati attraverso un legame (o ponte) **FOSFODIESTERE** che si forma fra il gruppo OH in 3' di un nucleotide e il C-5' fosforilato del nucleotide successivo.

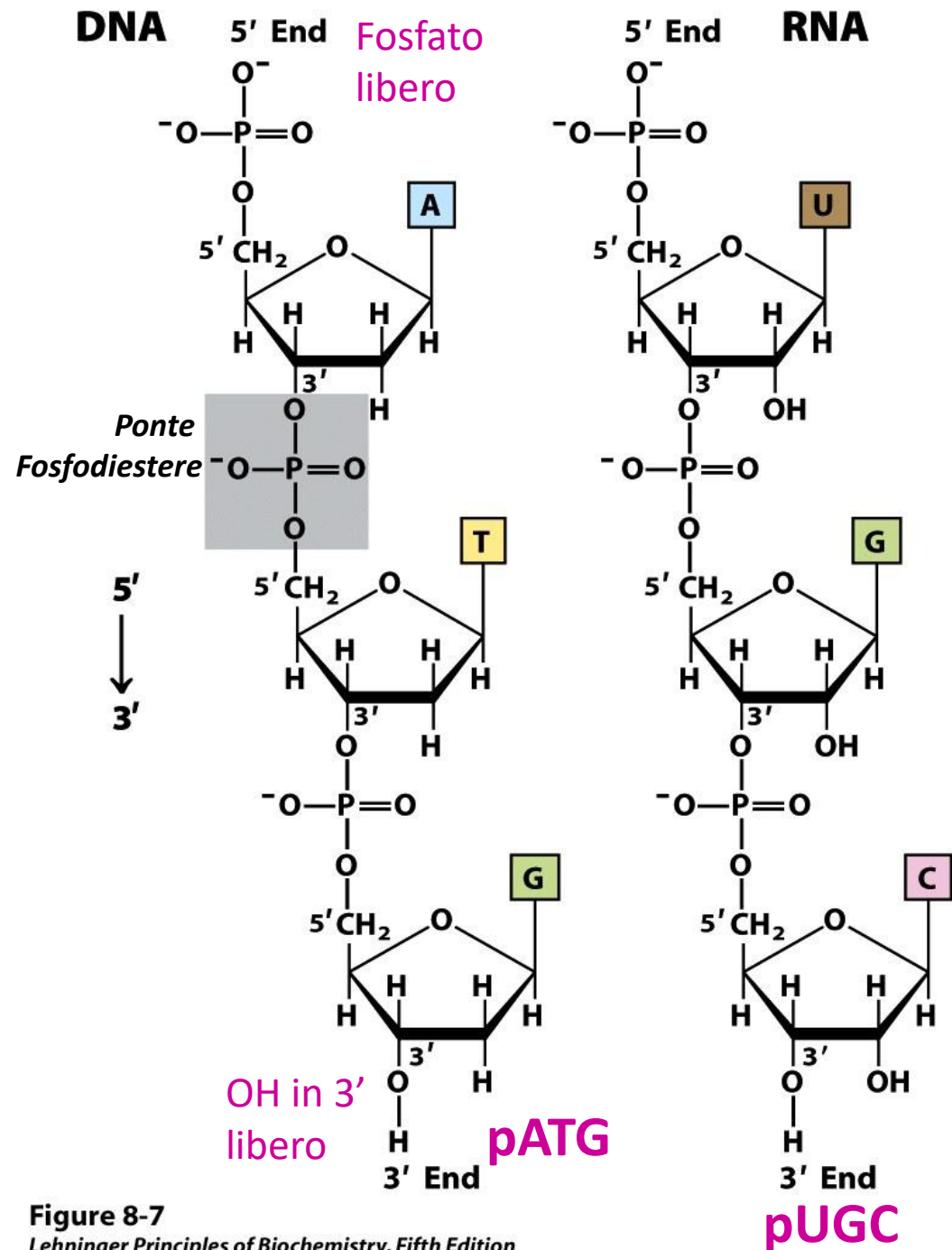
Lo scheletro dell'ac. Nucleico è formato dall'**alternanza di fosfato/ribosio (deossiribosio)**, e ogni zucchero dello scheletro lega una base azotata

Ogni catena polinucleotidica si differenzia dalle altre per la sua sequenza nucleotidica (sequenza di basi)



Lo scheletro del DNA e dell'RNA è altamente idrofilico per via dei gruppi OH che formano legami H con l'H<sub>2</sub>O, e dei gruppi fosfato carichi negativamente che interagiscono con proteine, ioni metallici o ammine.

→ Tutti i ponti fosfodiesterici 3'-5' hanno lo stesso orientamento lungo tutta la catena di DNA o di RNA, che quindi ha una sua polarità e parte dall'estremità 5' sino a giungere all'estremità 3'



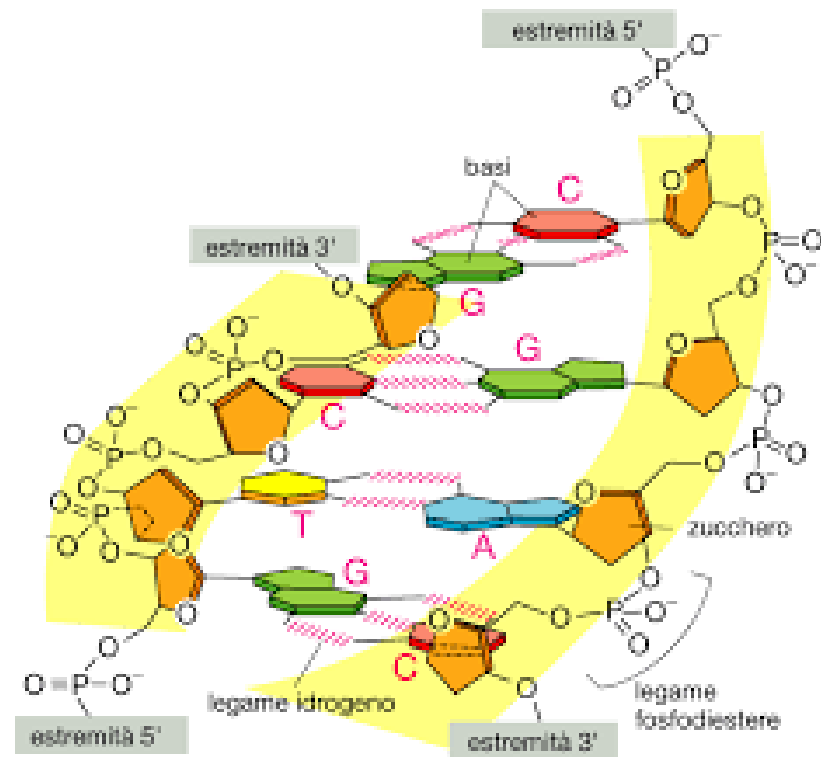
**Figure 8-7**

*Lehninger Principles of Biochemistry, Fifth Edition*

© 2008 W. H. Freeman and Company

# DNA (struttura di Watson e Crick)

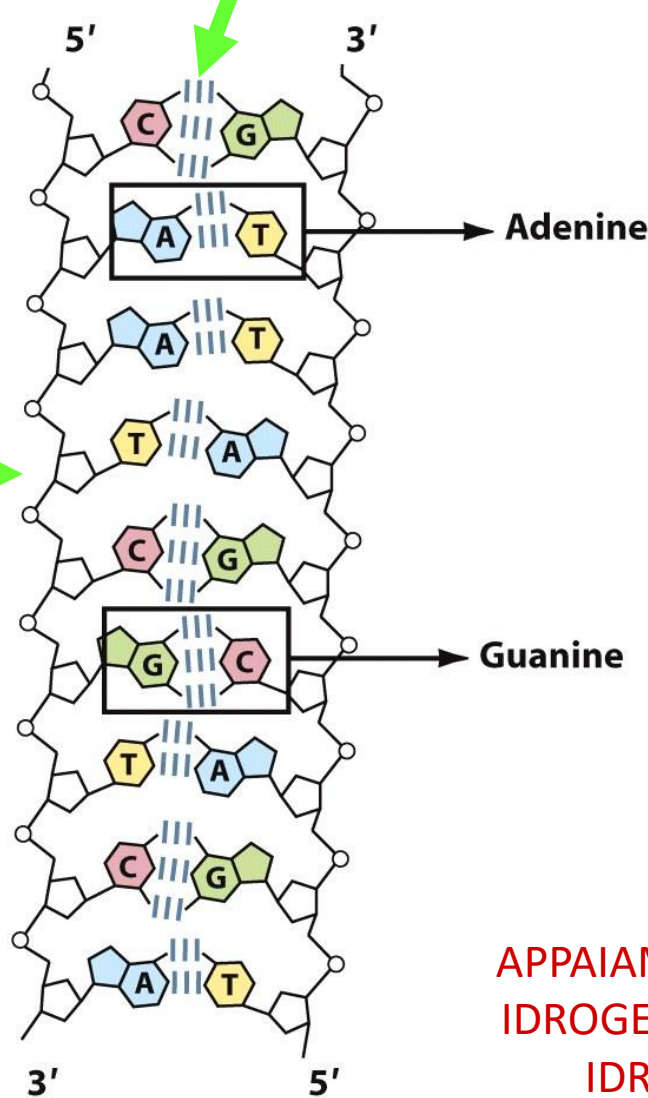
- ❖ Costituito da 2 catene lineari di deossiribonucleotidi, che si associano a formare un doppio filamento.
- ❖ I due filamenti si uniscono tramite legami idrogeno tra le loro basi azotate.
- ❖ L'appaiamento delle basi è altamente specifico: avviene tra basi complementari:  
**Guanina>Citosina**,  
**Adenina>Timina**.
- ❖ I due filamenti che costituiscono il DNA sono **COMPLEMENTARI**.
- ❖ In ogni molecola a doppio filamento di DNA, in qualsiasi specie vivente, **A e T, così come G e C, sono presenti in quantità equimolari** (regola di Chargaff)



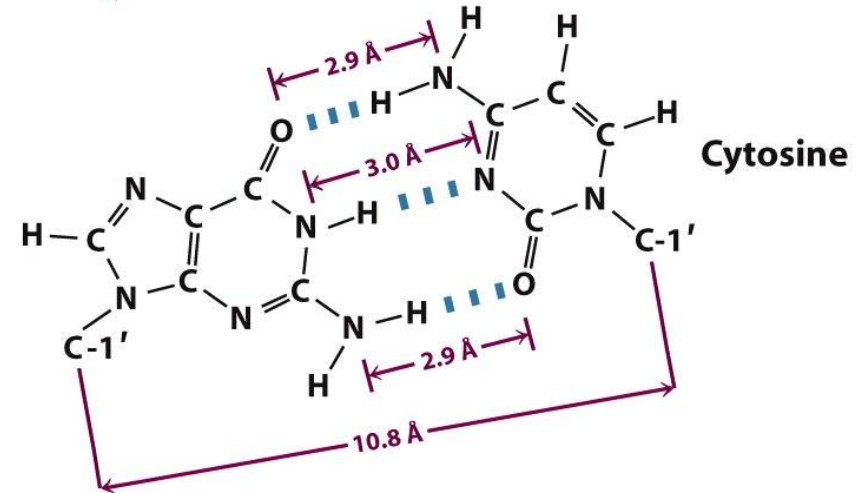
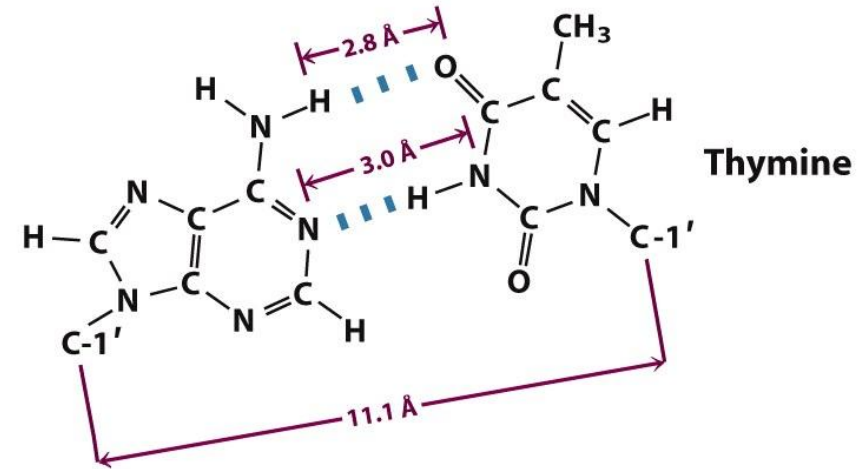
- ❖ Tutte queste caratteristiche sono state dedotte a partire da osservazioni sperimentali e costruendo su queste un modello strutturale: B-DNA (Watson e Crick)

I due filamenti complementari del DNA sono antiparalleli: uno è in direzione 5'-3' e l'altro in direzione 3'-5'.

parte interna idrofobica



lati esterni  
altamente  
Idrofilici

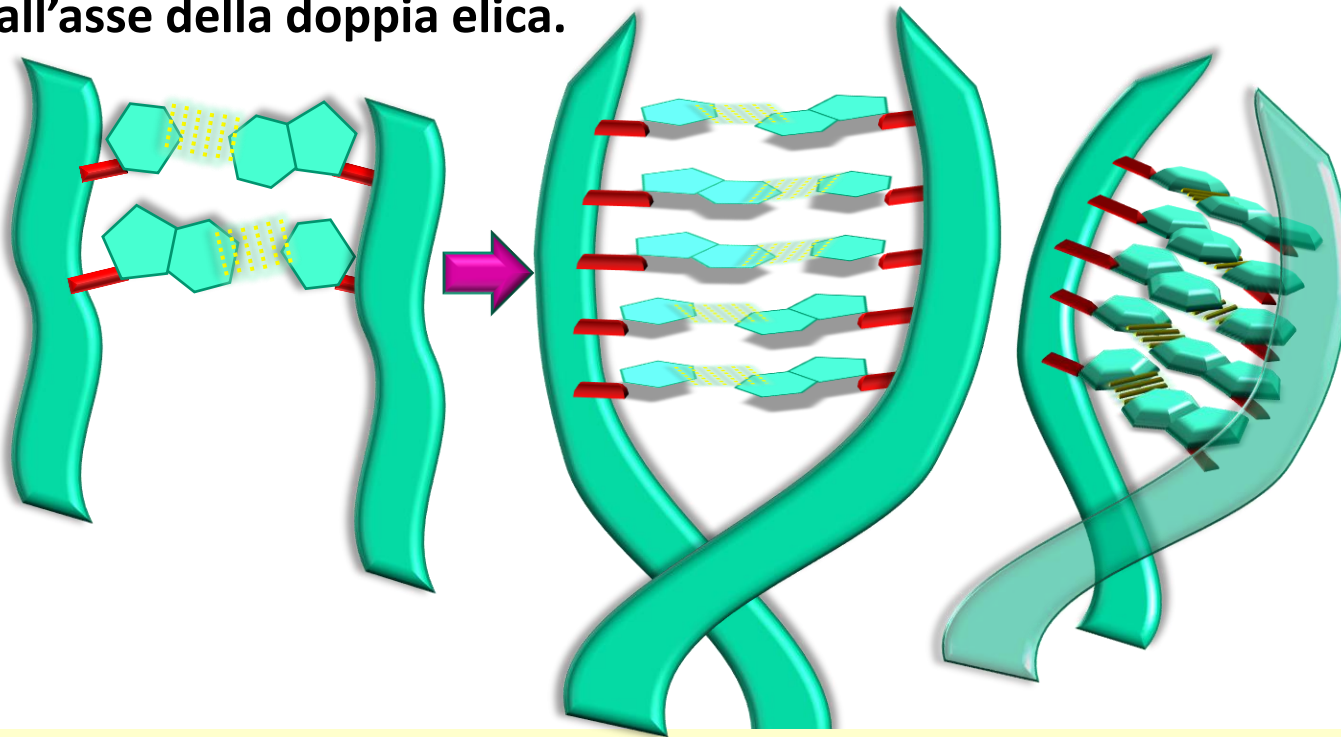


APPAIAMENTO DELLE BASI AZOTATE: 2 LEGAMI IDROGENO FRA ADENINA E TIMINA, 3 LEGAMI IDROGENO FRA GUANINA E CITOSINA

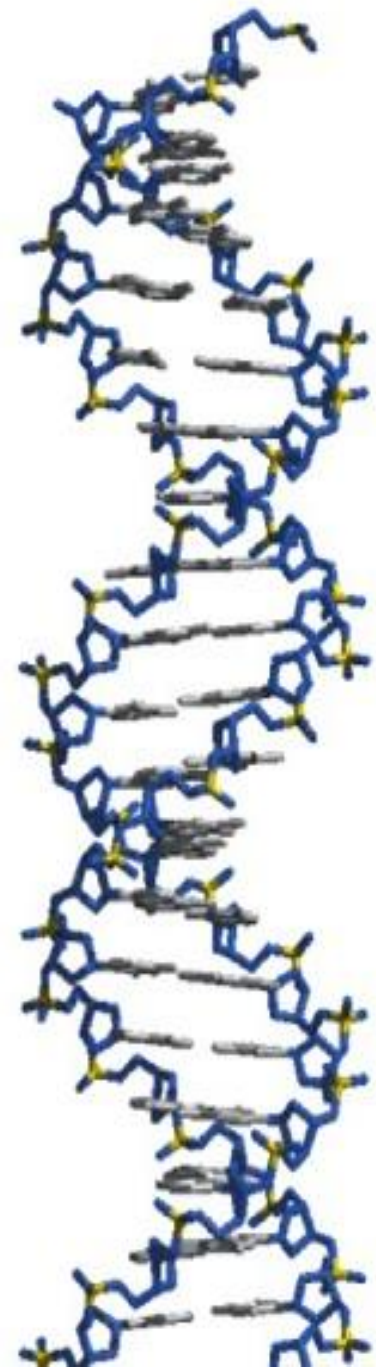


## Il doppio filamento si avvolge su se stesso a formare una doppia elica destrorsa

In seguito all'appaiamento, le coppie di basi si **IMPILANO** l'una sull'altra e si dispongono quasi **PERPENDICOLARMENTE** all'asse della doppia elica.

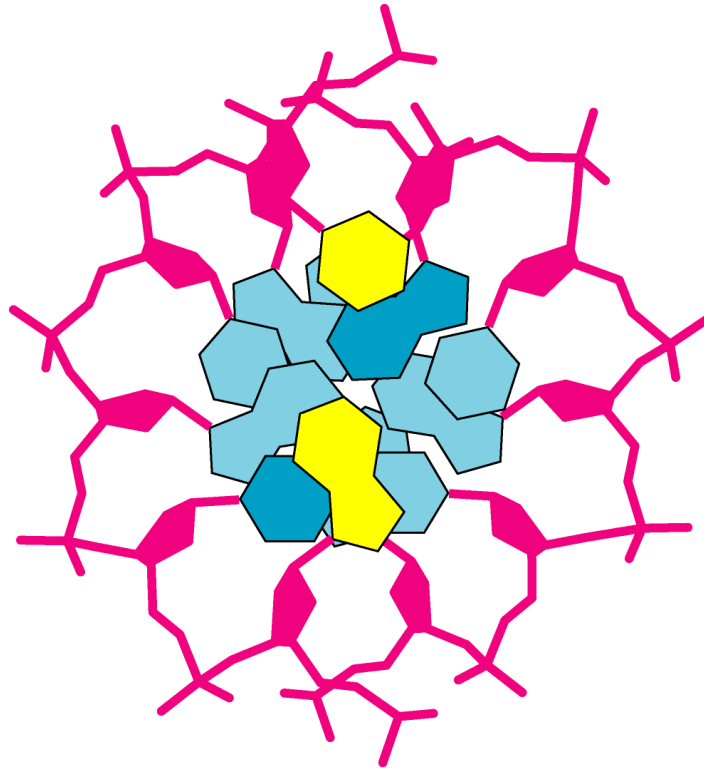


L'impilamento delle coppie di basi è stabilizzato da interazioni da impaccamento (idrofobiche e di van der Waals) che inducono la rotazione destrorsa degli scheletri zuccherofosfato.



## Il processo è cooperativo e trainato dall'effetto idrofobico

Nella sua struttura tridimensionale il DNA espone gli scheletri zucchero-fosfato all'ambiente acquoso esterno e raduna le basi impaccate in un ambiente idrofobico interno che stabilizza i legami idrogeno perché li scherma dalla competizione con le molecole d'acqua (DNA B).



# INTERAZIONI CHE STABILIZZANO LA DOPPIA ELICA DEL DNA

## NON-COVALENTI:

permettono flessibilità strutturale, necessaria per i processi di duplicazione e trascrizione del DNA, e nel contempo rafforzano la struttura

- 1) *LEGAMI IDROGENO*: tra le basi azotate appaiate di filamenti opposti
- 2) *Interazioni da IMPACCAMENTO*: forze di van der Waals fra le basi impilate, sono additive
- 3) *Effetti IDROFOBICI*: escludendo le molecole d'acqua dall'impaccamento delle coppie di basi si rafforzano i legami H
- 4) *Interazioni CARICA/CARICA*: la repulsione elettrostatica fra le cariche negative dei gruppi fosfato è schermata dall'interazione con ioni  $Mg^{2+}$  e proteine ISTONICHE ricche di residui amminoacidici basici (Lys e Arg)

# La struttura tridimensionale più frequente nel DNA è detta **DNA-B**

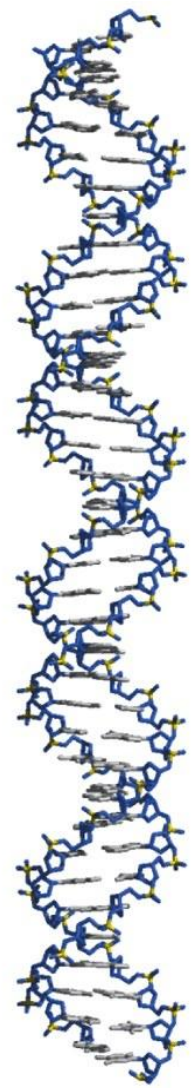
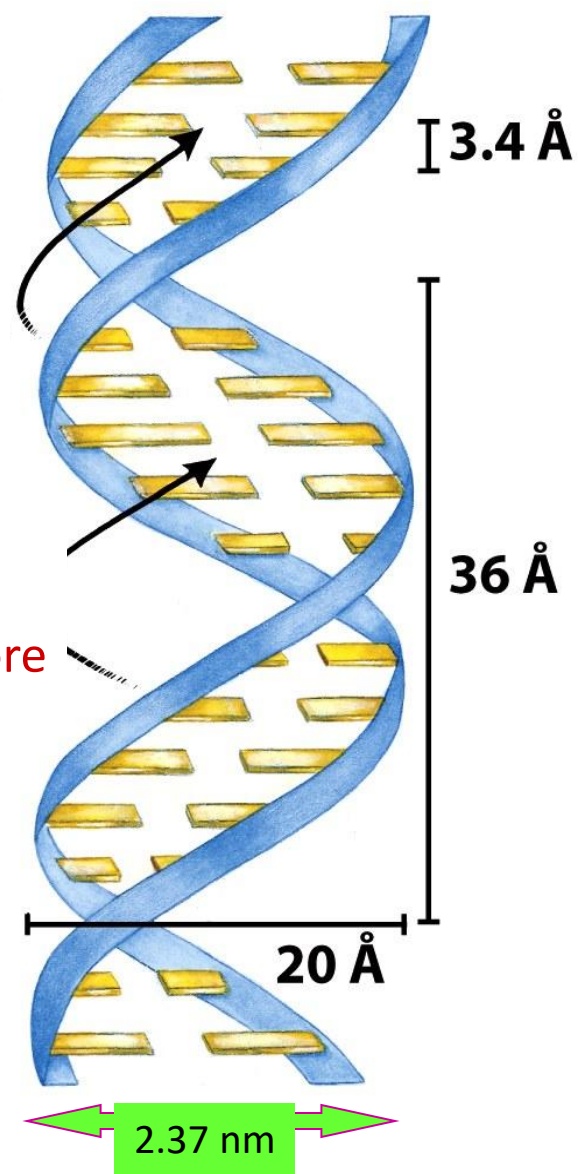
- Avvolgimento destrorso
- Diametro di ~2.37 nm
- Passo di 3.4-3.6 nm
- Ogni giro ha ~ 10.4 basi
- Distanza fra le basi ~0.3 nm

I solchi sono creati dall'impilamento fra le basi

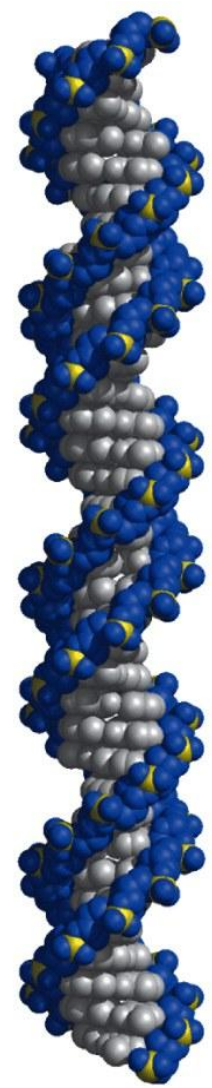
Solco minore

Solco maggiore

Nei solchi i gruppi funzionali delle basi azotate sono accessibili da parte di molecole che interagiscono col DNA



(b)



(c)

Figure 8-13  
Lehninger Principles of Biochemistry, Fifth Edition  
© 2008 W.H. Freeman and Company

# Il DNA può avere diverse conformazioni.

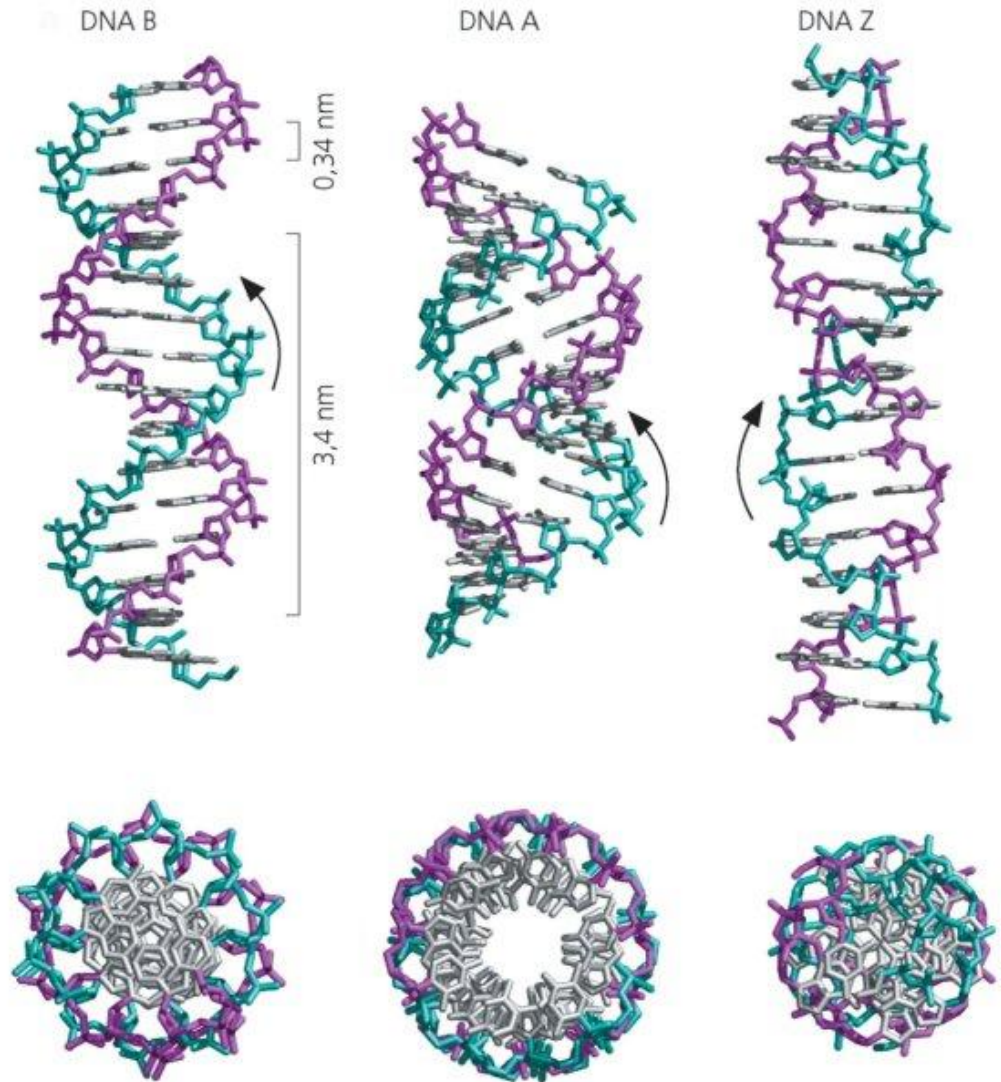
## DNA-A

Assunta quando la molecola è **disidratata**, il ripiegamento è più stretto della forma B e le coppie di basi sono inclinate rispetto all'asse della doppia elica

## DNA-Z

L'avvolgimento è **sinistrorso** e più rilassato, **non sono presenti i solchi.**

Assunta in sequenze ricche di coppie G/C.

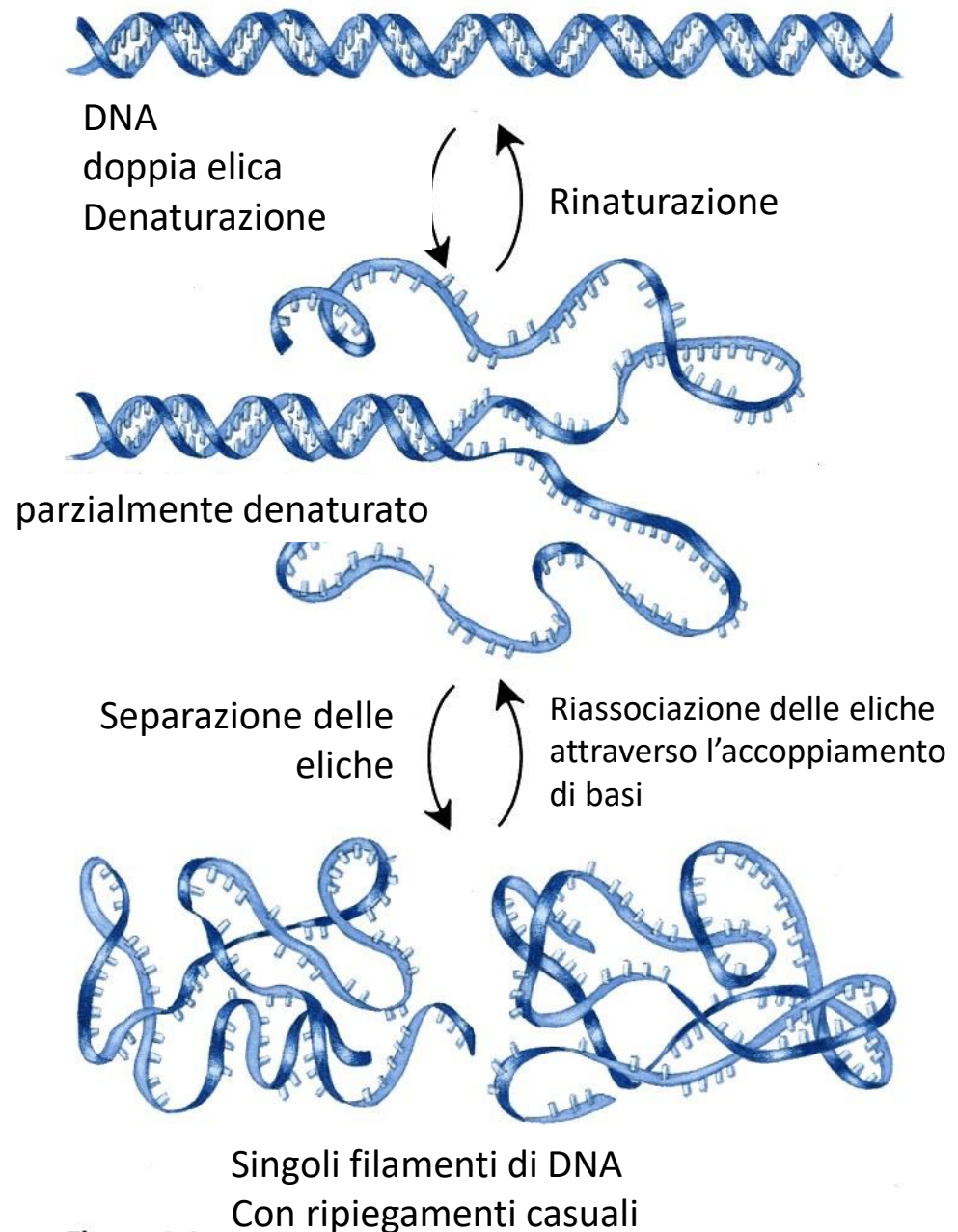


## DENATURAZIONE

In condizioni fisiologiche il DNA a doppia elica è più stabile che non quello a singola elica.

In certe occasioni la doppia elica può essere srotolata e aperta (*in vivo* durante la replicazione o la trascrizione ad opera di vari enzimi, oppure *in vitro* per effetto del calore o di agenti caotropici, es.: urea, cloruro di guanidinio)

È un processo reversibile.

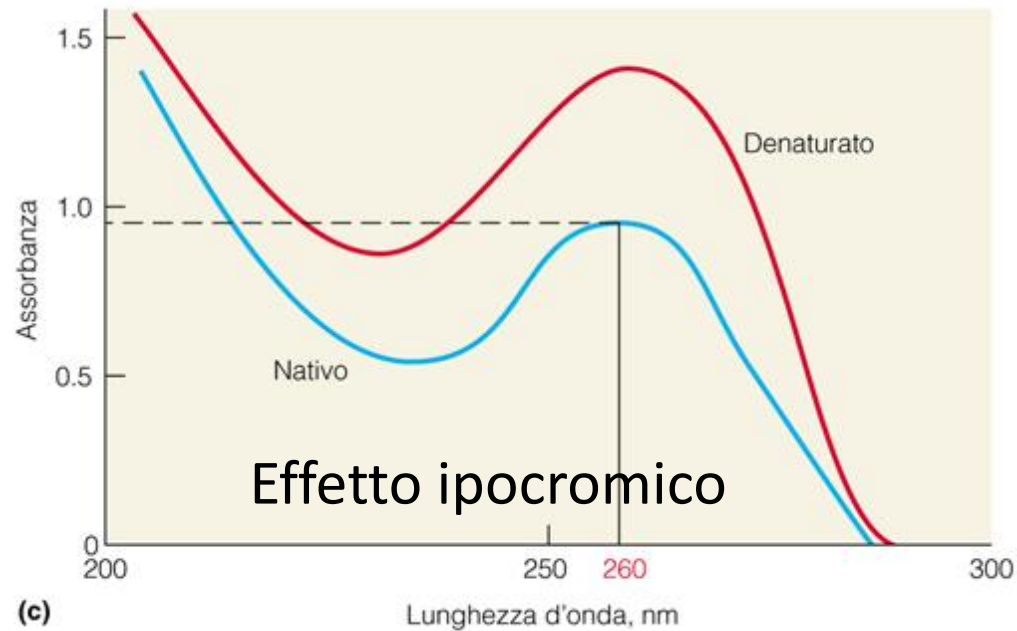


**Figure 8-26**

*Lehninger Principles of Biochemistry, Fifth Edition*

© 2008 W. H. Freeman and Company

La % di denaturazione è misurata in base all'assorbanza della soluzione di DNA a 260 nm: l'assorbanza cresce man mano che il DNA diventa a singola elica.



**Denaturazione per effetto del calore:** è causata dalla distruzione delle interazioni di impilamento e dei legami H.

**Temperatura di fusione ( $T_m$ )**= temperatura alla quale il 50% del DNA a doppia elica è diventato a singolo filamento, **dipende dalla sequenza nucleotidica**

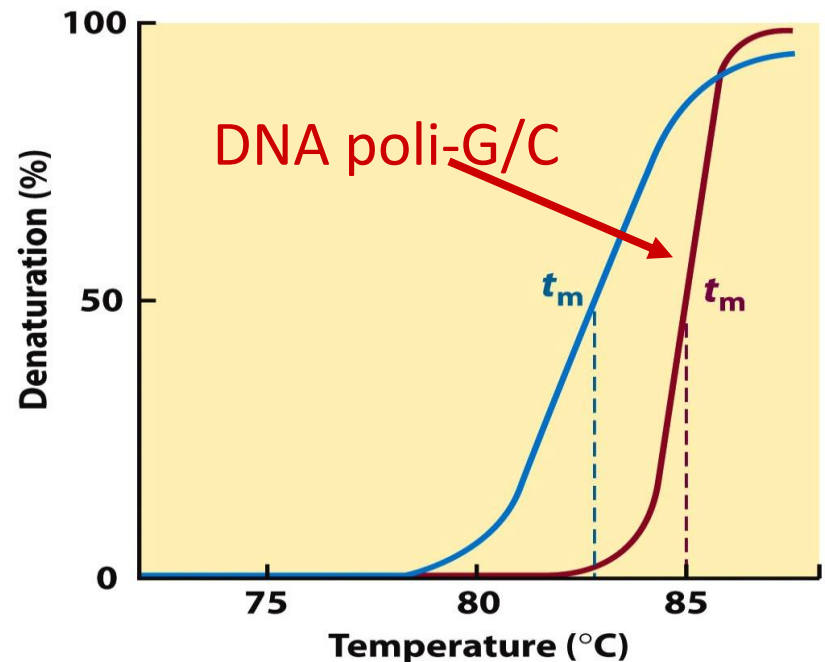


Figure 8-27a  
Lehninger Principles of Biochemistry, Fifth Edition  
© 2008 W. H. Freeman and Company

## RNA (AC. RIBONUCLEICO)

- Struttura a **singolo filamento** polinucleotidico.

- **Uracile (U)** in sostituzione di **timina (T)**
- **Ribosio** al posto di **deossi-ribosio**

**La Conformazione può essere:**

**a) casuale** in presenza di sostanze denaturanti

**b) elica a singolo filamento**

(impilamento delle basi e stabilizzazione tramite forze di van der Waals e idrofobiche)

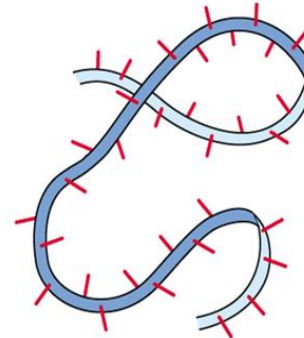
c) se la catena polinucleotidica possiede **regioni**

**AUTOCOMPLEMENTARI**

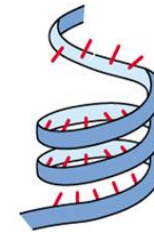
(appaiamenti A::U e G::C)

si formano delle strutture a

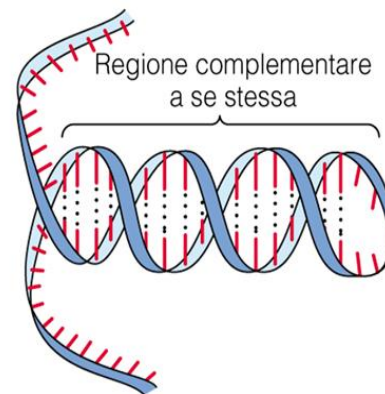
**forcina a doppia elica**



(a) Struttura ad avvolgimento casuale



(b) Struttura con le basi impilate (elica a singolo filamento)



(c) Formazione di una forcina in una regione di autoappaiamento (doppia elica)

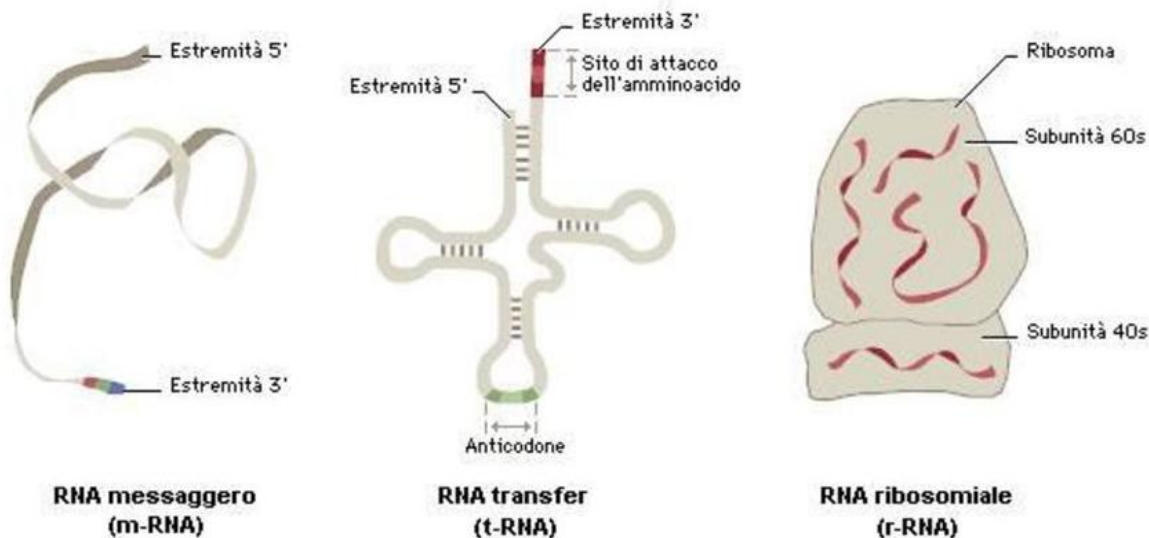


# Classi principali di RNA

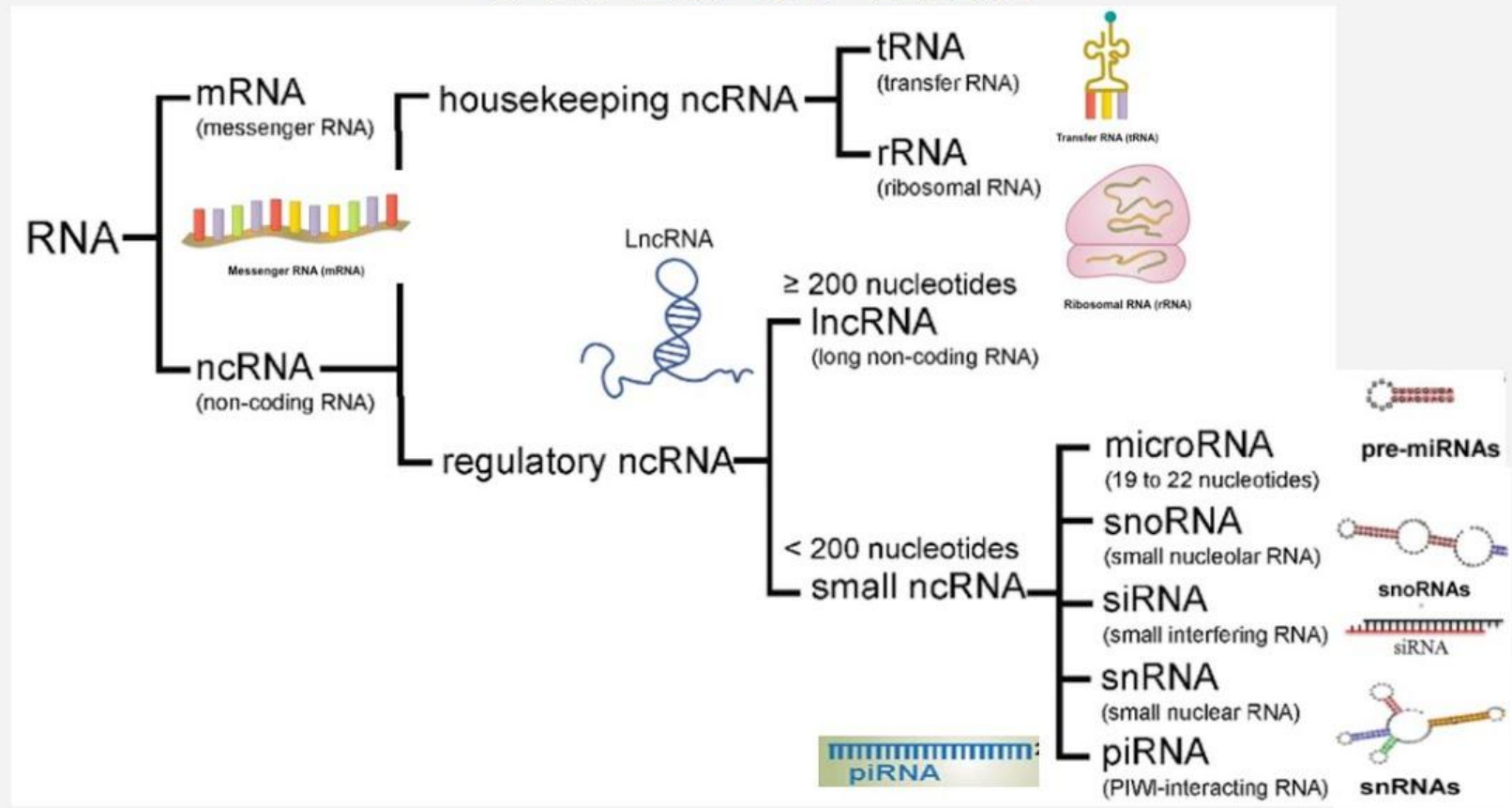
**RNA RIBOSOMIALE (rRNA):** costituisce i ribosomi insieme a specifiche proteine (ribonucleoproteine). Coinvolti nel processo di **traduzione** del codice genetico (sintesi proteica). ca 80% dell'RNA cellulare

**RNA transfer (tRNA):** RNA con funzione di trasporto, legano gli amminoacidi e li trasferiscono ai ribosomi perché siano incorporati nelle proteine nascenti. ca 15% dell'RNA cellulare

**RNA messaggero (mRNA):** codificano la sequenza amminoacidica di una proteina, trasportano l'informazione per la sintesi proteica dal DNA ai ribosomi. Un mRNA è sintetizzato sullo stampo di una regione di DNA che codifica per una data proteina (gene). 5-10% dell'RNA cellulare



# TYPES OF RNA



Recent studies have revealed that about 90% of the eukaryotic genome is transcribed. Interestingly, only 1–2% of these transcripts encode for proteins, the majority are transcribed as non-coding RNAs (ncRNAs) -ncRNAs are important regulatory molecules of many cellular processes in development and diseases, among which cancer, and have been identified as the key gene expression regulators.