

## Lezione 5

### Bioinformatica

Mauro Ceccanti<sup>‡</sup> e Alberto Paoluzzi<sup>†</sup>

<sup>†</sup>Dip. Informatica e Automazione – Università “Roma Tre”

<sup>‡</sup>Dip. Medicina Clinica – Università “La Sapienza”

### Nucleotidi ed acidi nucleici

Basi azotate

Basi puriniche

Basi pirimidiniche

Pentosi dei nucleotidi e degli acidi nucleici

Nucleosidi

Nucleotidi sono nucleosidi fosfati

NTP trasportatori di energia chimica

Gli acidi nucleici sono polinucleotidi

Notazione schematica per la struttura polinucleotidica

Sequenza delle basi



### Nucleotidi e acidi nucleici

*"Abbiamo scoperto il segreto della vita".*

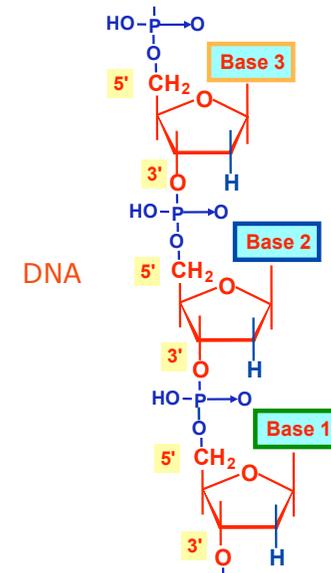
*F. Crick (1953)*

- ▶ **Nucleotidi e acidi nucleici sono molecole biologiche che possiedono basi azotate eterocicliche come principale componente della loro struttura**
- ▶ I nucleotidi partecipano come intermedi essenziali in tutti gli aspetti del metabolismo cellulare
- ▶ Gli acidi nucleici:
  - ▶ sono i vettori dell'eredità ed agenti del trasferimento dell'informazione genetica
  - ▶ sono polimeri lineari dei nucleotidi
  - ▶ due tipi principali: **acido deossiribonucleico (DNA)** e **acido ribonucleico (RNA)**

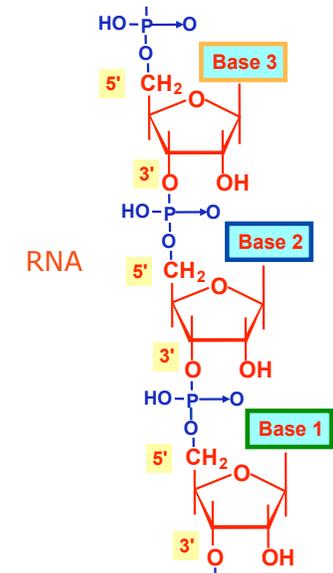


### Nucleotidi e acidi nucleici

acido deossiribonucleico (DNA)



acido ribonucleico (RNA)



# Nucleotidi e acidi nucleici

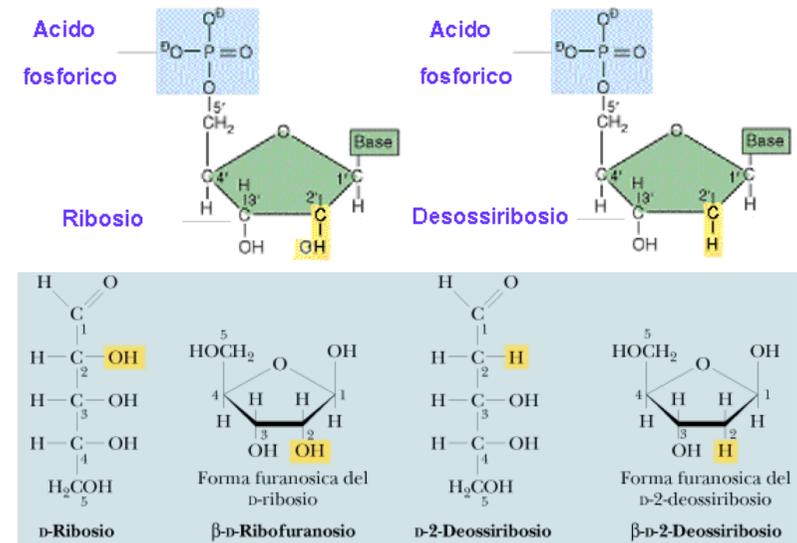
"Abbiamo scoperto il segreto della vita".

F. Crick (1953)

- ▶ L'idrolisi completa degli acidi nucleici libera
  - ▶ le basi azotate
  - ▶ uno zucchero a cinque atomi di carbonio
  - ▶ acido fosforico
- ▶ Lo zucchero nel DNA è il **2-deossiribosio**, mentre lo zucchero nell'RNA è il **ribosio**
- ▶ Il DNA è il deposito delle informazioni genetiche nelle cellule, mentre l'RNA è utilizzato nella trascrizione e nella traduzione di questa informazione.
  - ▶ Un'interessante eccezione a questa regola è che alcuni virus hanno la loro informazione genetica immagazzinata come RNA.



# Nucleotidi e acidi nucleici



## Contents

### Nucleotidi ed acidi nucleici

#### Basi azotate

Basi puriniche

Basi pirimidiniche

Pentosi dei nucleotidi e degli acidi nucleici

Nucleosidi

Nucleotidi sono nucleosidi fosfati

NTP trasportatori di energia chimica

Gli acidi nucleici sono polinucleotidi

Notazione schematica per la struttura polinucleotidica

Sequenza delle basi



## Basi azotate

Le basi dei nucleotidi e degli acidi nucleici sono derivati delle **pirimidine** o delle **purine**

- ▶ Le pirimidine sono molecole eterocicliche aromatiche a sei termini contenenti due atomi di azoto
- ▶ La struttura purinica è un sistema policiclico ottenuto dalla fusione di un ciclo pirimidinico con un ciclo imidazolico a cinque atomi di carbonio.
- ▶ Le pirimidine naturali più comuni sono la citosina, l'uracile e la timidina (5-metiluracile). **Citosina** e **timidina** sono le pirimidine tipiche del **DNA**, mentre **citosina** e **uracile** si ritrovano nell'**RNA**
- ▶ Le due purine più comuni sono **adenina** e **guanina** e si trovano sia nel **DNA** che nell'**RNA**

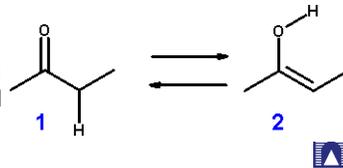


## Basi azotate

- ▶ Le forme di risonanza dei cicli purinici e pirimidinici e la ricchezza elettronica dei sostituenti –OH ed –NH<sub>2</sub> conferisce loro la capacità di andare incontro ad un fenomeno di **tautomerizzazione cheto-enolica**: le pirimidine e le purine esistono come coppie di tautomeri<sup>a</sup>
  - ▶ Il tautomero chetonico è chiamato lattame
  - ▶ Il tautomero enolico è chiamato lattime
- ▶ Il legame a idrogeno fra le basi puriniche e le pirimidiniche è fondamentale per la funzione biologica degli acidi nucleici, come nella formazione della struttura a doppia elica del DNA.
- ▶ Un'altra proprietà delle pirimidine e delle purine è la loro forte assorbanza della luce ultravioletta (UV), conseguenza della loro struttura eterociclica aromatica.

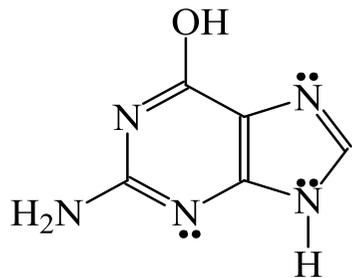
<sup>a</sup>

In organic chemistry, keto-enol tautomerism refers to a chemical equilibrium between a keto form (a ketone or an aldehyde) and an enol. The enol and keto forms are said to be tautomers of each other. The interconversion of the two forms involves the movement of a proton and the shifting of bonding electrons; hence, the isomerism qualifies as tautomerism (Wikipedia)

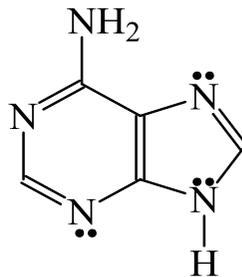


## Basi puriniche

guanina



adenina



## Contents

### Nucleotidi ed acidi nucleici

Basi azotate

**Basi puriniche**

Basi pirimidiniche

Pentosi dei nucleotidi e degli acidi nucleici

Nucleosidi

Nucleotidi sono nucleosidi fosfati

NTP trasportatori di energia chimica

Gli acidi nucleici sono polinucleotidi

Notazione schematica per la struttura polinucleotidica

Sequenza delle basi



## Contents

### Nucleotidi ed acidi nucleici

Basi azotate

Basi puriniche

**Basi pirimidiniche**

Pentosi dei nucleotidi e degli acidi nucleici

Nucleosidi

Nucleotidi sono nucleosidi fosfati

NTP trasportatori di energia chimica

Gli acidi nucleici sono polinucleotidi

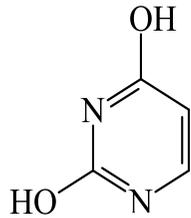
Notazione schematica per la struttura polinucleotidica

Sequenza delle basi



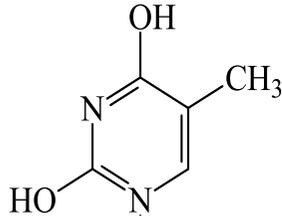
## Basi pirimidiniche

uracile (RNA)



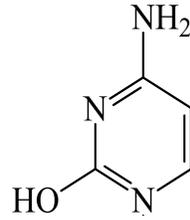
2,4-diossi-pirimidina

timina (DNA)



2,4-diossi-5-metil-pirimidina

citosina



2-ossi-4-ammino-pirimidina



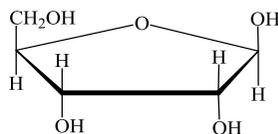
## Pentosi dei nucleotidi e degli acidi nucleici

Gli zuccheri a cinque atomi di carbonio sono chiamati **pentosi**

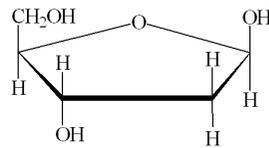
- ▶ L'RNA contiene il pentoso D-ribosio
- ▶ Il DNA contiene il 2-deossi-D-ribosio
- ▶ Nei due casi il pentoso è nella forma ad **anello furanosico** a cinque membri
- ▶ Il gruppo ossidrilico nella posizione 2' ha degli effetti rilevanti sulle possibili strutture secondarie dell'RNA e del DNA, come sulla loro suscettibilità relativa all'idrolisi chimica ed enzimatica



furano



$\beta$ -D-ribosio



$\beta$ -D-2-desossiribosio



## Contents

### Nucleotidi ed acidi nucleici

- Basi azotate
- Basi puriniche
- Basi pirimidiniche
- Pentosi dei nucleotidi e degli acidi nucleici**
- Nucleosidi
- Nucleotidi sono nucleosidi fosfati
- NTP trasportatori di energia chimica
- Gli acidi nucleici sono polinucleotidi
- Notazione schematica per la struttura polinucleotidica
- Sequenza delle basi

## Contents

### Nucleotidi ed acidi nucleici

- Basi azotate
- Basi puriniche
- Basi pirimidiniche
- Pentosi dei nucleotidi e degli acidi nucleici**
- Nucleosidi**
- Nucleotidi sono nucleosidi fosfati
- NTP trasportatori di energia chimica
- Gli acidi nucleici sono polinucleotidi
- Notazione schematica per la struttura polinucleotidica
- Sequenza delle basi

## Nucleosidi

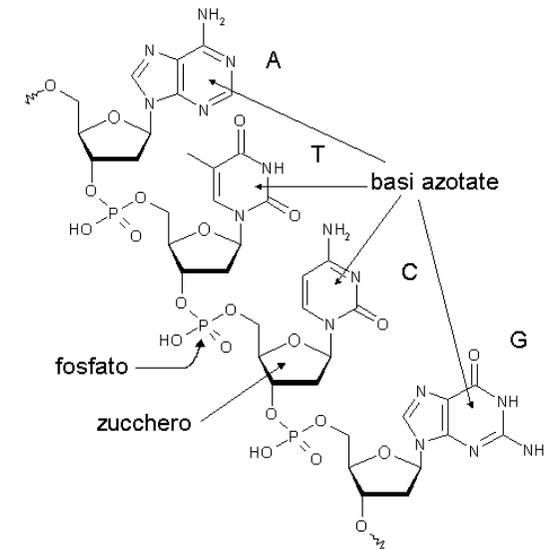
unire una base azotata ad uno zucchero

- ▶ I **nucleosidi** sono composti formati da una base azotata legata ad uno zucchero tramite un legame glicosidico
  - ▶ Il legame glicosidico coinvolge l'atomo di carbonio carbonilico dello zucchero il quale, nella struttura ciclica, è legato all'atomo di ossigeno dell'anello: tale atomo di carbonio è detto **anomerico**.
  - ▶ Il legame glicosidico può essere sia  $\alpha$ , sia  $\beta$ , a seconda del suo orientamento relativo con l'atomo di carbonio anomerico.
- ▶ Nei nucleosidi il legame è N-glicosidico, poiché connette il C<sub>1</sub>' anomerico all' N<sub>1</sub>' della pirimidina o all'N<sub>9</sub> della purina
- ▶ I legami glicosidici nei nucleosidi e nei nucleotidi sono sempre nella configurazione  $\beta$
- ▶ I nucleosidi sono molto solubili a causa dell'idrofilicità della parte glucosidica



## Nucleosidi

unire una base azotata ad uno zucchero



## Contents

### Nucleotidi ed acidi nucleici

Basi azotate  
Basi puriniche  
Basi pirimidiniche  
Pentosi dei nucleotidi e degli acidi nucleici  
Nucleosidi  
Nucleotidi sono nucleosidi fosfati  
NTP trasportatori di energia chimica  
Gli acidi nucleici sono polinucleotidi  
Notazione schematica per la struttura polinucleotidica  
Sequenza delle basi



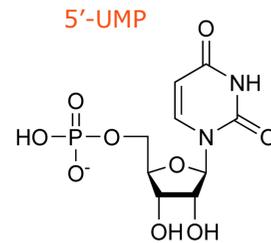
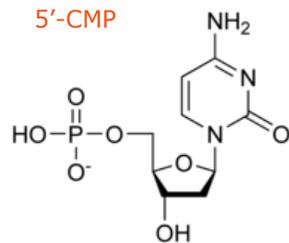
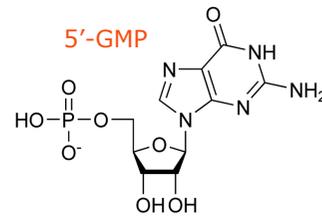
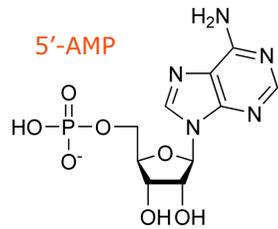
## Nucleotidi sono nucleosidi fosfati

- ▶ Si ottiene un nucleotide quando l'acido fosforico è esterificato al gruppo -OH di un nucleoside
- ▶ L'anello ribosilico del nucleoside ha tre gruppi -OH liberi per l'esterificazione alla posizione C<sub>2</sub>' , C<sub>3</sub>' e C<sub>5</sub>' , mentre il 2'-deossiribosio ne ha solo due
- ▶ La maggior parte dei nucleotidi monomerici nella cellula sono **ribonucleotidi** con un gruppo 5'- fosfato



## Nucleotidi sono nucleosidi fosfati

I quattro ribonucleotidi più comuni sono: **adenosina 5'-monofosfato (AMP)**; **guanosina 5'-monofosfato (GMP)**; **citidina 5'-monofosfato (CMP)** e **uridina 5'-monofosfato (UMP)**.



## Relationship between pH and pK<sub>a</sub>

$$pH = pK_a + \log \frac{[A^-]}{[HA]} = pK_a + \log \frac{[conjugate\ base]}{[undissociated\ acid]}$$

- ▶ The actual meaning of  $pK_a$ : the negative log of the dissociation constant, which is a measure of strength of an acid/base
- ▶ when  $pK_a = pH$ , there is equal concentration of acid and its conjugate base.
- ▶  $pK_a$  helps to understand the nature of acid and base like  $pH$ :
  - ▶  $pK_a < 2$  strong acid
  - ▶  $2 < pK_a < 7$  weak acid
  - ▶  $7 < pK_a < 10$  weak base
  - ▶  $10 < pK_a$  strong base



## Acids and Bases

Use of the pK<sub>a</sub> Table

- ▶ The propensity of a compound to donate a proton is measured as its **acid ionization constant**, or  $K_a$ .
- ▶ These  $K_a$  values cover a wide range of  $10^{10}$  for the strongest acids such as sulfuric acid to  $10^{-50}$  for the weakest acids such as methane.
- ▶ A more convenient scale of acidity is  $pK_a$  which is the negative logarithm of the  $K_a$ :

$$pK_a = -\log K_a$$

- ▶ Thus a  $K_a$  of  $10^{10}$  becomes a  $pK_a$  of -10, and a  $K_a$  of  $10^{-50}$  becomes a  $pK_a$  of 50.
- ▶ More generally, more negative  $pK_a$  values correspond to stronger acids and more positive  $pK_a$  values correspond to weaker acids.
- ▶ The exact  $pK_a$  of an acid is a function of molecular structure (i.e., functional groups) and must be determined experimentally.
- ▶ We know that similar functional groups react in similar ways, so we can estimate  $pK_a$  values by comparing the structure and functional groups of an unknown with the structure and functional groups of acids whose  $pK_a$  values are known.



## Nucleotidi sono nucleosidi fosfati

acidi nucleici: polimeri di nucleosidi monofosfati

- ▶ Poiché il valore di  $pK_a$ , per la prima dissociazione di un protone dalla parte dell'acido fosforico è 1.0 o meno, i nucleotidi hanno proprietà acide
- ▶ Il valore della  $pK_a$  per la seconda dissociazione è circa 6.0, per cui ad un pH neutro o superiore, la carica netta di un nucleoside monofosfato è -2
- ▶ Gli acidi nucleici, che sono polimeri di nucleosidi monofosfati, traggono il loro nome dall'acidità di questi gruppi fosfato

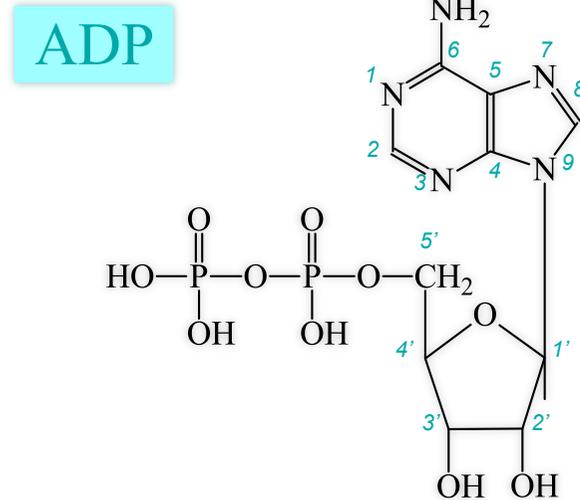


## Nucleotidi sono nucleosidi fosfati

- ▶ In tutte le cellule si trovano nucleosidi monofosfati nei quali l'acido fosforico è esterificato a due dei gruppi ossidrilici del ribosio. Formando questi due legami esterei con un solo fosfato si ottiene una struttura ciclica
  - ▶ l' **AMP** 3', 5' ciclico, spesso abbreviato come **cAMP** ed il suo analogo guanilico 3', 5' **GMP** ciclico o **cGMP** sono importanti regolatori del metabolismo cellulare.
- ▶ Gruppi fosfato aggiuntivi possono essere legati al gruppo fosforilico del nucleotide tramite la formazione dei legami fosfoanidridici.
  - ▶ L'aggiunta di un secondo fosfato all'AMP crea l'adenosina 5'- difosfato o **ADP** e l'aggiunta del terzo produce l'adenosina 5'- trifosfato o **ATP**
- ▶ I nucleosidi 5'-monofosfati, i nucleosidi 5'-difosfati e i nucleosidi 5'-trifosfati si trovano sempre allo stato libero nella cellula, come i loro corrispondenti deossiribonucleosidi fosfati

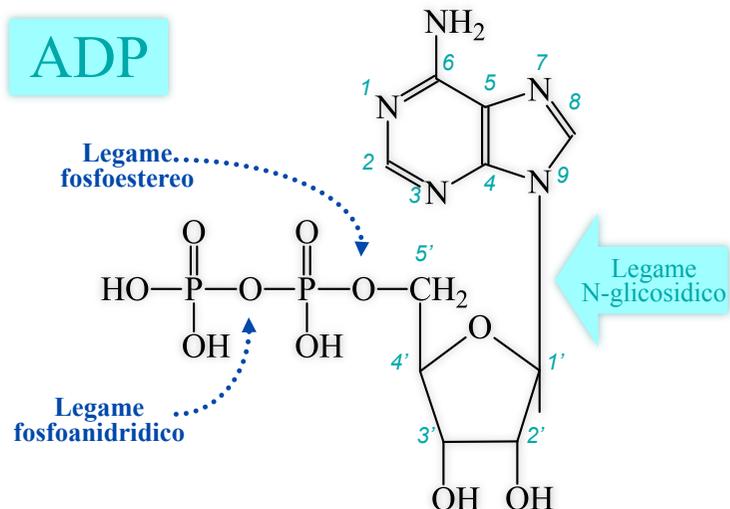
## Nucleotidi sono nucleosidi fosfati

adenosina 5'-difosfato o **ADP**



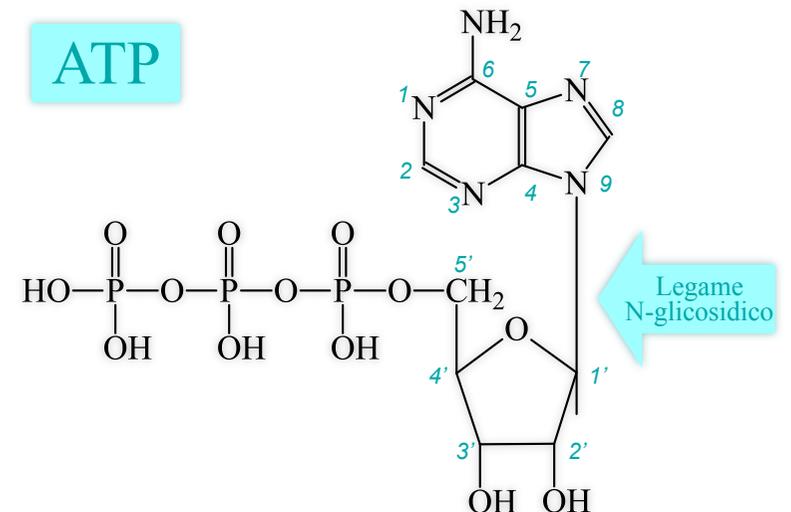
## Nucleotidi sono nucleosidi fosfati

adenosina 5'-difosfato o **ADP**



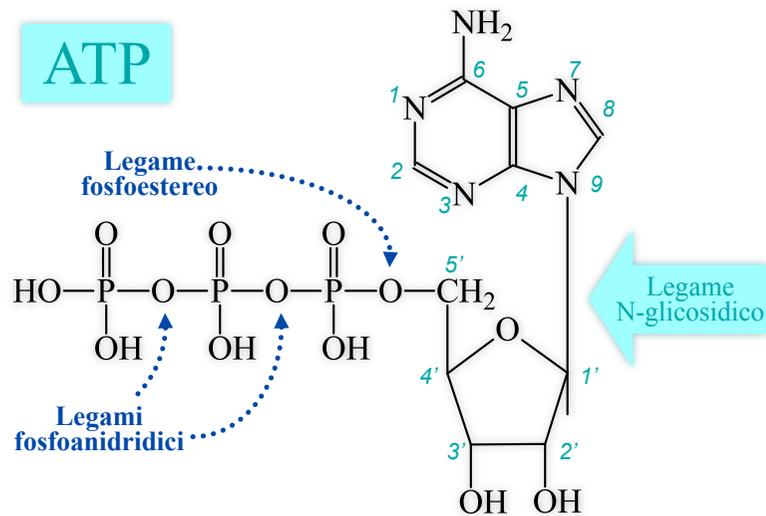
## Nucleotidi sono nucleosidi fosfati

adenosina 5'-trifosfato o **ATP**



## Nucleotidi sono nucleosidi fosfati

adenosina 5'-trifosfato o ATP



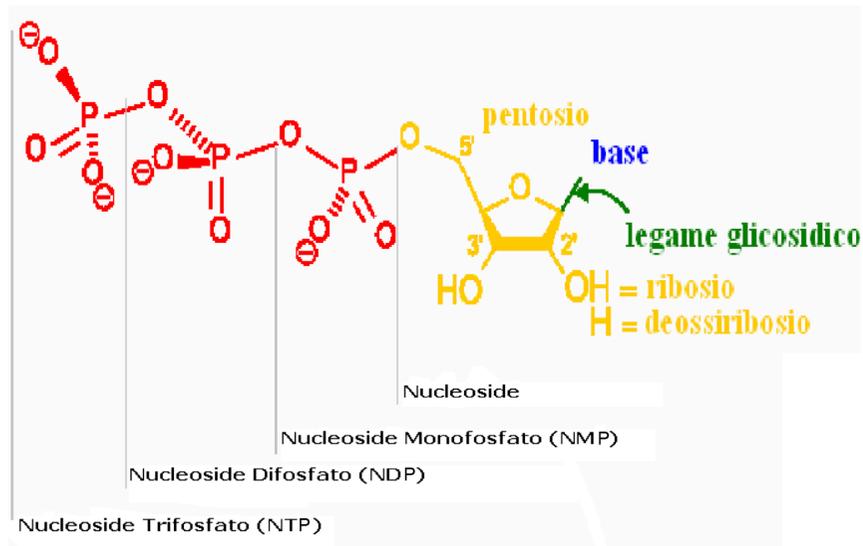
## Nucleotidi sono nucleosidi fosfati

- ▶ I nucleosidi 5'-difosfati (NDP) e i nucleosidi 5'-trifosfati (NTP) sono acidi poliprotici relativamente forti, poiché essi dissociano rispettivamente tre e quattro protoni del loro gruppo di acido fosforico
- ▶ I risultanti anioni fosfato formano complessi stabili con cationi divalenti come il  $Mg_2^+$  ed il  $Ca_2^+$ .
- ▶ I legami fosfoanidridici nei NDP e NTP sono facilmente idrolizzati con acido, liberando fosfato inorganico ( $P_i$ ) ed il corrispondente NMP



## Nucleotidi sono nucleosidi fosfati

Schema di aggregazione strutturale



## Contents

### Nucleotidi ed acidi nucleici

- Basi azotate
- Basi puriniche
- Basi pirimidiniche
- Pentosi dei nucleotidi e degli acidi nucleici
- Nucleosidi
- Nucleotidi sono nucleosidi fosfati
- NTP trasportatori di energia chimica**
- Gli acidi nucleici sono polinucleotidi
- Notazione schematica per la struttura polinucleotidica
- Sequenza delle basi



## NTP trasportatori di energia chimica

componenti indispensabili del metabolismo

- ▶ I nucleosidi 5' trifosfati sono componenti indispensabili del metabolismo, poiché a causa del loro legame fosfoanidridico, sono la prima sorgente di energia chimica per il lavoro biologico
- ▶ Tutte le reazioni biochimiche dei nucleotidi coinvolgono il trasferimento del gruppo fosfato o di quello pirofosfato
- ▶ I vari nucleotidi sono incanalati verso direzioni metaboliche appropriate tramite il riconoscimento della base del nucleotide, la quale serve solamente come informazione, non partecipando direttamente al legame covalente che si forma.
- ▶ Questo ruolo di informazione si estende agli acidi nucleici, nei quali le basi servono come unità di riconoscimento per il codice dell'informazione genetica.



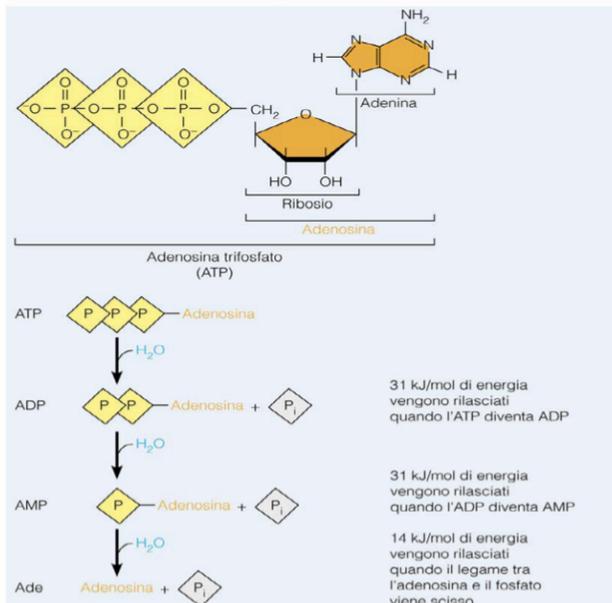
## NTP trasportatori di energia chimica

I nucleosidi 5' trifosfati sono componenti indispensabili del metabolismo, poiché a causa del loro legame fosfoanidridico, sono la prima sorgente di energia chimica per il lavoro biologico

- ▶ Tutte le reazioni biochimiche dei nucleotidi coinvolgono il trasferimento del gruppo fosfato o di quello **pirofosfato**
- ▶ I vari nucleotidi sono incanalati verso direzioni metaboliche appropriate tramite il riconoscimento della base del nucleotide, la quale serve solamente come informazione, non partecipando direttamente al legame covalente che si forma.
- ▶ Questo ruolo di informazione si estende agli acidi nucleici, nei quali le basi servono come unità di riconoscimento per il codice dell'informazione genetica.



## NTP trasportatori di energia chimica



## Contents

### Nucleotidi ed acidi nucleici

- Basi azotate
- Basi puriniche
- Basi pirimidiniche
- Pentosi dei nucleotidi e degli acidi nucleici
- Nucleosidi
- Nucleotidi sono nucleosidi fosfati
- NTP trasportatori di energia chimica
- Gli acidi nucleici sono polinucleotidi
- Notazione schematica per la struttura polinucleotidica
- Sequenza delle basi



## Gli acidi nucleici sono polinucleotidi

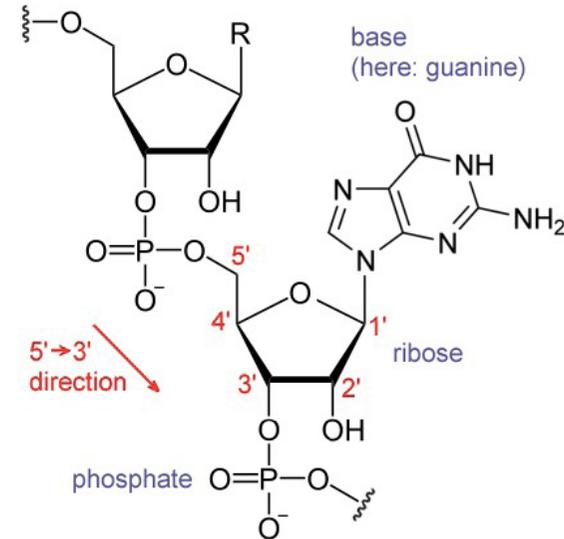
Gli acidi nucleici sono polimeri lineari di nucleotidi legati dal 5' al 3' con ponti fosfodiesteri

- ▶ Essi sono costituiti come se nucleosidi 5' monofosfati fossero successivamente aggiunti al gruppo 3'-OH del nucleotide precedente, un processo che conferisce direzionalità al polimero.
- ▶ I **polimeri di ribonucleotidi** sono detti **acido ribonucleico** o RNA
- ▶ I **polimeri dei deossiribonucleotidi** sono detti **acido deossiribonucleico** o DNA
- ▶ Nei deossiribonucleotidi il C-1' ed il C-4' sono coinvolti nella formazione dell'anello furanosico e, poiché non c'è il 2'-OH, solo i gruppi idrossilici in posizione 3' ed 5' sono disponibili per il processo di polimerizzazione.



## Gli acidi nucleici sono polinucleotidi

Gli acidi nucleici sono polimeri lineari di nucleotidi legati dal 5' al 3' con ponti fosfodiesteri



## Contents

### Nucleotidi ed acidi nucleici

Basi azotate  
Basi puriniche  
Basi pirimidiniche  
Pentosi dei nucleotidi e degli acidi nucleici  
Nucleosidi  
Nucleotidi sono nucleosidi fosfati  
NTP trasportatori di energia chimica  
Gli acidi nucleici sono polinucleotidi  
Notazione schematica per la struttura polinucleotidica  
Sequenza delle basi



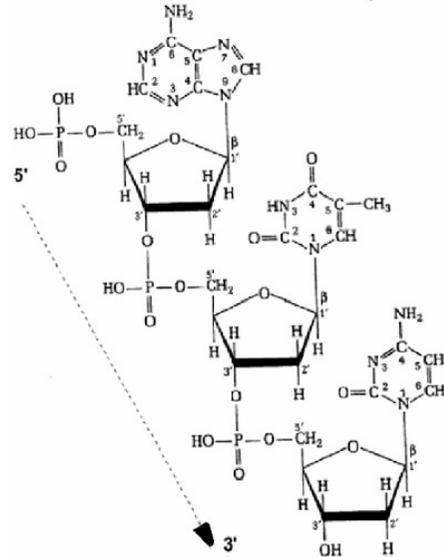
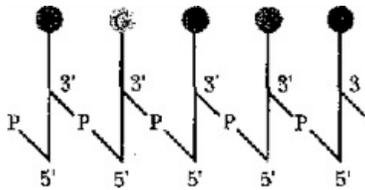
## Notazione schematica per la struttura polinucleotidica

- ▶ Esiste una ripetitiva uniformità nello scheletro covalente nei polinucleotidi, nei quali la catena può essere visualizzata andando dal 5' verso il 3' lungo gli atomi di un furanosio e, saltando tramite il ponte fosfodiesterico, verso il furanosio del nucleotide della posizione successiva.
- ▶ Tale scheletro può essere simboleggiato tracciando una linea verticale per rappresentare il furanosio ed una sbarra per rappresentare il legame fosfodiesterico.
- ▶ La sbarra diagonale decorre dalla metà della linea rappresentante un furanosio al fondo di quella successiva, ad indicare il carbonio 3'-(metà) ed il 5'-(fondo) dei due furanosici vicini legati da un ponte fosfodiesterico.
- ▶ La base attaccata a ciascun furanosio è indicata sopra tramite notazione ad una lettera: A, C, G o U (o T).
- ▶ **La convenzione, in tutte le strutture, è quella di leggere la catena del polinucleotide dall'estremità 5' di un polimero verso l'estremità 3'**
- ▶ E' da notare che questa direzione di lettura passa attraverso il legame fosfodiesterico dal 5' al 3'.



## Notazione schematica per la struttura polinucleotidica

- ▶ I nucleotidi del DNA e dell'RNA sono uniti tra loro mediante legami covalenti fosfodiesterici in cui il gruppo ossidrilico in 3' di un nucleotide è unito al gruppo ossidrilico del successivo.
- ▶ L'alternanza dei residui fosfato e dei pentosi formano lo scheletro degli acidi nucleici.



## Contents

### Nucleotidi ed acidi nucleici

- Basi azotate
- Basi puriniche
- Basi pirimidiniche
- Pentosi dei nucleotidi e degli acidi nucleici
- Nucleosidi
- Nucleotidi sono nucleosidi fosfati
- NTP trasportatori di energia chimica
- Gli acidi nucleici sono polinucleotidi
- Notazione schematica per la struttura polinucleotidica
- Sequenza delle basi



## Sequenza delle basi

Notazione distintiva

- ▶ Nella struttura chimica degli acidi nucleici le basi non fanno parte dello scheletro di zucchero-fosfato, ma sono utili quali catena laterale distintiva
- ▶ La variazione della base ad ogni posizione nucleotidica è significativa: **le basi forniscono identità al polipeptide**
- ▶ Un semplice sistema di notazione per queste strutture è quello di elencare le basi nel polinucleotide usando singole lettere maiuscole A, G, C e U (o T).
- ▶ Per distinguere fra le sequenze di RNA e DNA si fa precedere quest'ultima da una lettera minuscola "d" per indicare "deossi"



## Sequenza delle basi

Struttura elicoidale degli acidi nucleici

