

Lezione 9

Bioinformatica

Mauro Ceccanti[‡] e Alberto Paoluzzi[†]

[†]Dip. Informatica e Automazione – Università “Roma Tre”
[‡]Dip. Medicina Clinica – Università “La Sapienza”

Lezione 9: Acidi Nucleici

Classi di acidi nucleici
DNA: generalità
DNA: Regole di Chargaff
DNA: la doppia elica di Watson e Crick
DNA: dimensioni della molecola
RNA messaggero
RNA ribosomiale
RNA di trasferimento
Piccoli RNA nucleari



Sommario

Lezione 9: Acidi Nucleici

Classi di acidi nucleici
DNA: generalità
DNA: Regole di Chargaff
DNA: la doppia elica di Watson e Crick
DNA: dimensioni della molecola
RNA messaggero
RNA ribosomiale
RNA di trasferimento
Piccoli RNA nucleari

Classi di acidi nucleici

Le due maggiori classi degli acidi nucleici sono il DNA e l'RNA

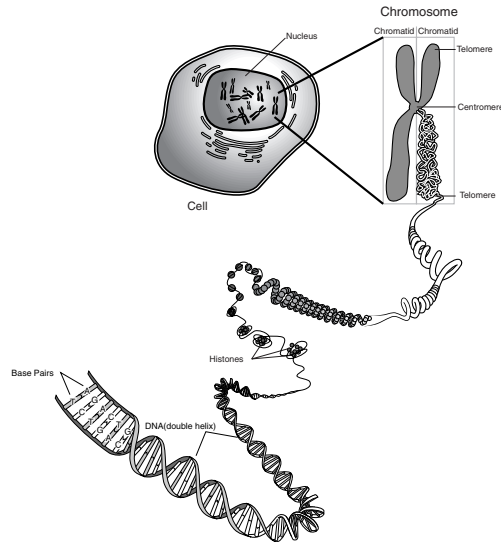
- ▶ L'informazione per costruire tutte le macromolecole della cellula (anche lo stesso DNA) è preservata nel DNA e vi si può accedere tramite la trascrizione dell'informazione nelle copie di RNA
- ▶ Nei batteri e nei virus esiste una sola molecola di DNA, o "cromosoma", che deve essere abbastanza grande da contenere sufficiente informazione per costruire tutte le macromolecole necessarie a mantenere una cellula vivente
- ▶ Il cromosoma di *Escherichia coli* ha una massa molecolare di $2,9 \times 10^9$ dalton¹ e contiene più di 9 milioni di nucleotidi

¹The **unified atomic mass unit** or **atomic mass unit** (u), or **dalton** (Da) or, sometimes, universal mass unit (u), is a unit of mass used to express atomic and molecular masses. It is the approximate mass of a hydrogen atom, a proton, or a neutron. (Wikipedia)



Cromosomi diploidi del nucleo

Le cellule eucariote hanno molti cromosomi e il DNA si trova principalmente in due copie nei cromosomi diploidi del nucleo, ma il DNA si trova anche nei mitocondri e nei cloroplasti, dove codifica per alcune proteine ed RNA specifici di questi organelli



Classi di acidi nucleici

L'RNA è presente in copie multiple e in varie forme

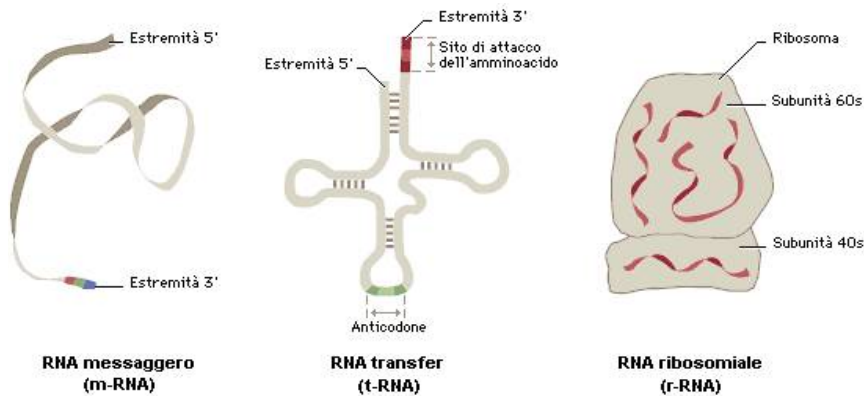
- ▶ Le cellule contengono fino ad otto volte più RNA che DNA.
- ▶ L'RNA ha un numero importante di funzioni biologiche e su questa base le molecole di RNA sono classificate in diversi grandi categorie
 - ▶ RNA messaggero (m-RNA)
 - ▶ RNA ribosomiale (r-RNA)
 - ▶ RNA di trasferimento (t-RNA)
- ▶ Le cellule eucariotiche contengono un tipo di RNA in più, i piccoli RNA nucleari (sn-RNA)².

²sub-nuclear RNA



Classi di acidi nucleici

Tipi di RNA



Sommario

Lezione 9: Acidi Nucleici

Classi di acidi nucleici

DNA: generalità

DNA: Regole di Chargaff

DNA: la doppia elica di Watson e Crick

DNA: dimensioni della molecola

RNA messaggero

RNA ribosomiale

RNA di trasferimento

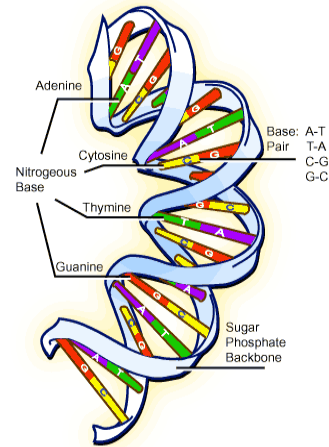
Piccoli RNA nucleari



DNA: generalità

Struttura molecolare

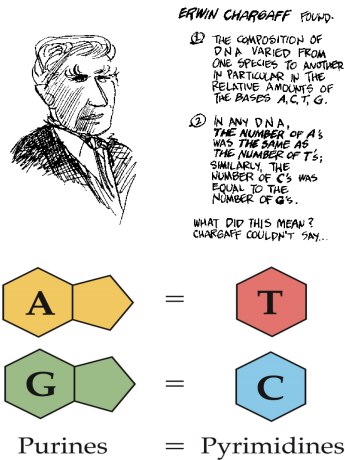
- ▶ DNA isolato da differenti cellule e virus consiste tipicamente di due filamenti polinucleotidici avvolti insieme per formare una lunga e sottile molecola, il **DNA a doppia elica**
- ▶ Le eliche corrono in direzioni opposte, cioè sono antiparallele e sono tenute insieme nella struttura della doppia elica attraverso **legami idrogeno intercatena**
- ▶ Questi legami idrogeno appaiano le basi dei nucleotidi di una catena alle basi complementari nell'altra, un fenomeno detto **appaiamento delle basi**



DNA: Regole di Chargaff

- ▶ L'analisi del DNA effettuata da Erwin Chargaff negli anni '40 mostrava che le quattro basi che si trovano comunemente nel DNA (A, C, G e T) non erano quantità equimolari e le quantità relative di ciascuna variava da specie a specie
- ▶ Chargaff notò che due appaiamenti fra le basi (**alanina-timina** e **guanina-citosina**) si trovano sempre in un rapporto di 1:1 ed il numero dei residui di pirimidina eguagliava sempre il numero di residui di purina
- ▶ Le conclusioni sono note come regole di Chargaff:

[A] = [T]; [C] = [G]; [pirimidine] = [purine]



Sommario

Lezione 9: Acidi Nucleici

Classi di acidi nucleici

DNA: generalità

DNA: Regole di Chargaff

DNA: la doppia elica di Watson e Crick

DNA: dimensioni della molecola

RNA messaggero

RNA ribosomiale

RNA di trasferimento

Piccoli RNA nucleari



Sommario

Lezione 9: Acidi Nucleici

Classi di acidi nucleici

DNA: generalità

DNA: Regole di Chargaff

DNA: la doppia elica di Watson e Crick

DNA: dimensioni della molecola

RNA messaggero

RNA ribosomiale

RNA di trasferimento

Piccoli RNA nucleari



DNA: la doppia elica di Watson e Crick

- ▶ James Watson e Francis Crick, che nel 1953 lavoravano al laboratorio Cavendish all'Università di Cambridge, trassero vantaggio dai risultati di Chargaff e dai dati ottenuti da Rosalind Franklin e Maurice Wilkins con la diffrazione ai raggi-x di fibre di DNA, concludendo che

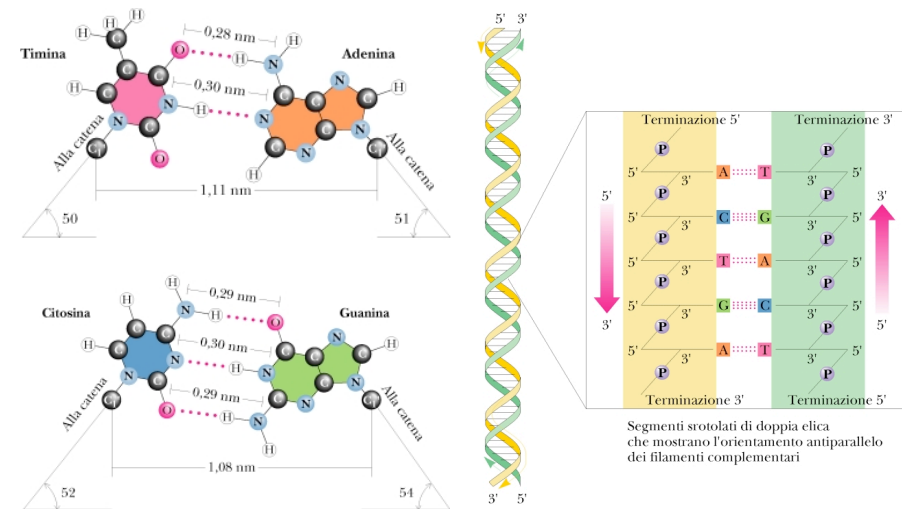
il DNA è una doppia elica complementare

- ▶ I due filamenti dell'acido deossiribonucleico sono tenuti insieme dai legami a idrogeno formati fra le coppie di basi.
- ▶ L'appaiamento delle basi è estremamente specifico: se l'adenina è una purina, la timina deve essere una pirimidina. Similmente la guanina si appaia solo con la citosina.
- ▶ Watson capì, provando varie combinazioni di basi ed utilizzando accurati modelli strutturali, che:

le coppie A-T e G-C formano unità spaziali equivalenti



DNA: la doppia elica di Watson e Crick

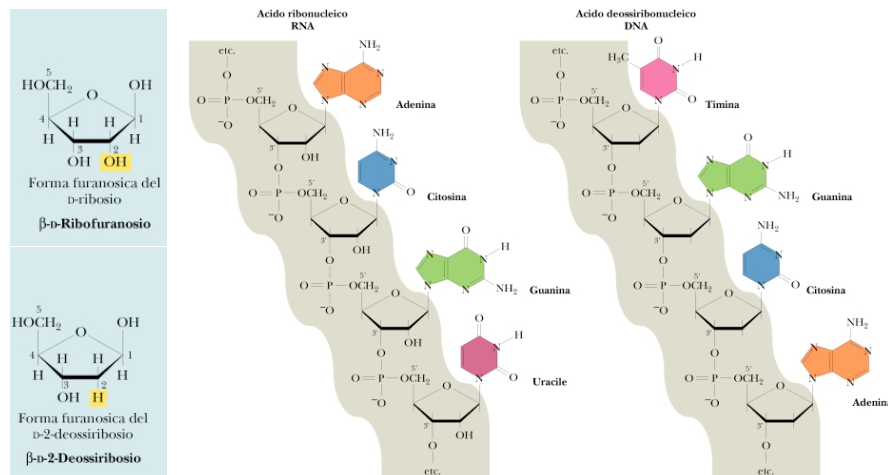


Segmenti srotolati di doppia elica che mostrano l'orientamento antiparallelo dei filamenti complementari



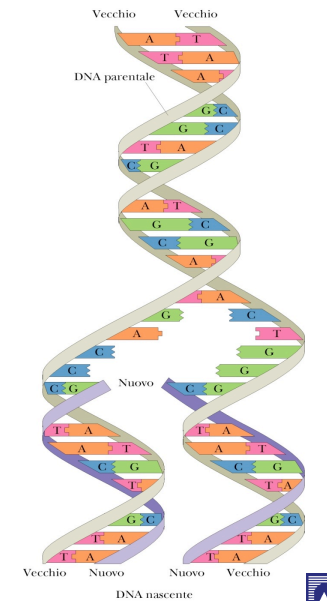
DNA: la doppia elica di Watson e Crick

I legami 3'-5' fosfodiesteri uniscono i nucleotidi per formare una catena polinucleotidica



DNA: la doppia elica di Watson e Crick

- ▶ La molecola di DNA non solo si conforma con le regole di Chargaff, ma ha anche un profondo significato collegato con l'ereditarietà: **la sequenza di basi in un filamento ha una relazione complementare alla sequenza di basi nell'altro**
- ▶ **L'informazione** contenuta nella sequenza di un filamento **è conservata** nella sequenza dell'altro
- ▶ La separazione dei due filamenti e la fedele replicazione di ciascuno, attraverso un processo nel quale l'appaiamento delle basi specifica la sequenza nel filamento neo-sintetizzato, porta a **due molecole figlie identiche** in ogni caratteristica alla doppia elica parentale



Sommario

Lezione 9: Acidi Nucleici

Classi di acidi nucleici

DNA: generalità

DNA: Regole di Chargaff

DNA: la doppia elica di Watson e Crick

DNA: dimensioni della molecola

RNA messaggero

RNA ribosomiale

RNA di trasferimento

Piccoli RNA nucleari



Sommario

Lezione 9: Acidi Nucleici

Classi di acidi nucleici

DNA: generalità

DNA: Regole di Chargaff

DNA: la doppia elica di Watson e Crick

DNA: dimensioni della molecola

RNA messaggero

RNA ribosomiale

RNA di trasferimento

Piccoli RNA nucleari



DNA: dimensioni della molecola

Per la natura a doppia elica delle molecole di DNA, la loro dimensione può essere rappresentata in base al numero di paia di basi nucleotidiche che contengono.

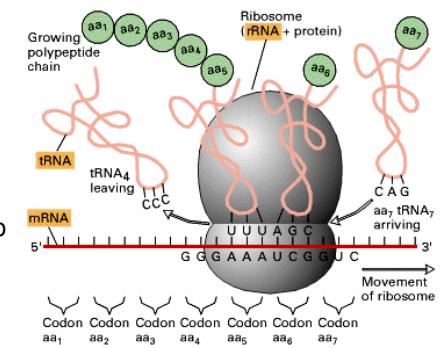
- ▶ Per esempio il cromosoma di *E. coli* consiste di 4.64×10^6 paia di basi (*bp*) cioè 4.64×10^3 chilopaia di basi (*Kbp*). Il DNA è una molecola filiforme; il diametro della doppia elica di DNA è solo di 2 nm , ma la lunghezza della molecola di DNA che forma il cromosoma di *E. coli* è maggiore di $1.6 \times 10^6 \text{ nm}$ (1.6 mm)
- ▶ La dimensione massima di *E. coli* è di 2000 nm (0.002 mm). Il suo cromosoma deve essere quindi altamente ripiegato
- ▶ La molecola di DNA in un cromosoma umano di media lunghezza è 30 volte questa lunghezza



RNA messaggero

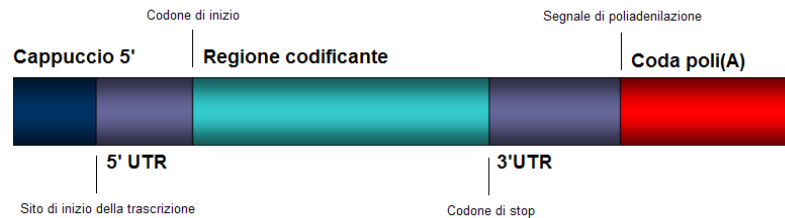
L'RNA messaggero (m-RNA) è sintetizzato durante la **trascrizione**

- ▶ La trascrizione è un processo enzimatico nel quale una copia di RNA è costruita con sequenza di basi determinata da un filamento di DNA
- ▶ Soltanto le unità genetiche di DNA che codificano per le proteine sono trascritte in molecole di m-RNA
- ▶ L' m-RNA dirige la sintesi di una catena polipeptidica, mentre l'informazione contenuta nella sequenza nucleotidica è tradotta in una sequenza amminoacidica dal sistema ribosomiale
- ▶ Le molecole di r-RNA e t-RNA sono sintetizzate tramite la trascrizione della sequenza di DNA, ma a differenza del m-RNA, non sono tradotte per formare proteine.



RNA messaggero

- ▶ Nei procarioti, un singolo mRNA può contenere l'informazione per la sintesi di diverse catene polipeptidiche all'interno della stessa sequenza. Al contrario, gli mRNA eucariotici codificano solo un polipeptide, ma sono più complessi perché sono sintetizzati nel nucleo nella forma di precursori molecolari più grandi detti RNA nucleari eterogenei o hnRNA
- ▶ Inoltre le molecole di hnRNA e di mRNA eucariotiche hanno da 100 a 200 residui di acido adenilico attaccati alla loro estremità 3', la cosiddetta coda di poli(A). Tale poliadenilazione si verifica dopo che la trascrizione è stata completata e si crede che contribuisca alla stabilità dell' mRNA



RNA ribosomiale

L'informazione genetica nella sequenza nucleotidica di un m-RNA è tradotta nella sequenza amminoacidica della catena di un polipeptide dai **ribosomi**

- ▶ I ribosomi sono composti di due subunità di differenti dimensioni che si dissociano se la concentrazione di Mg^{++} è $< 10^{-3} M$. Ciascuna subunità è un aggregato sopramolecolare di proteine ed RNA ed ha una massa totale di 10^6 dalton o più.
 - ▶ I ribosomi sono composti per il 65% da RNA e per il 35% da proteine
- ▶ Strutture subcellulari di questa grandezza possono essere descritte in termini di coefficiente di sedimentazione, o valore *S*, che è correlato alla velocità con cui esse sedimentano in un campo centrifugo
 - ▶ I ribosomi eucariotici sono leggermente più grandi di quelli procariotici, con subunità di 40S e 60S, rispettivamente
- ▶ Gli RNA ribosomiali contengono diversi nucleotidi caratteristici modificati, tra cui residui di pseudouridina, acido ribotimidilico e basi metilate

Sommario

Lezione 9: Acidi Nucleici

Classi di acidi nucleici

DNA: generalità

DNA: Regole di Chargaff

DNA: la doppia elica di Watson e Crick

DNA: dimensioni della molecola

RNA messaggero

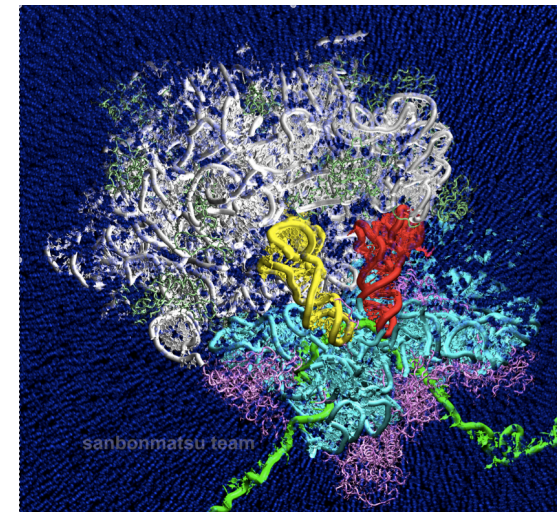
RNA ribosomiale

RNA di trasferimento

Piccoli RNA nucleari

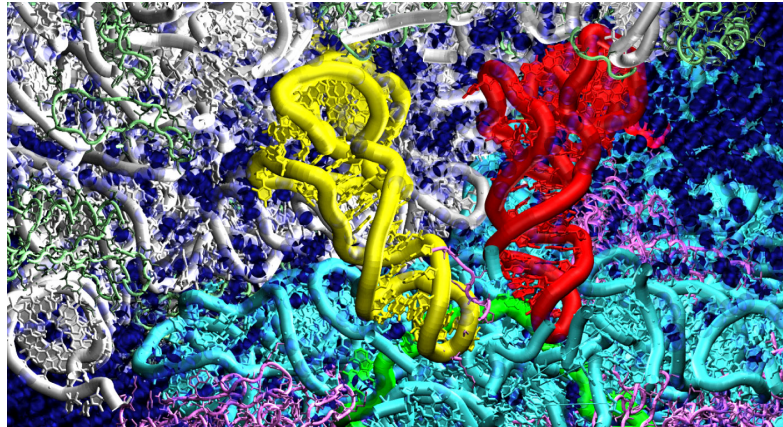
RNA ribosomiale

Researchers at Los Alamos National Laboratory have set a new world's record by performing the first million-atom computer simulation in biology (2005). The ribosome is the ancient molecular factory responsible for synthesizing proteins in all organisms.



RNA ribosomiale

Los Alamos computer scientists have created a molecular simulation of the cell's protein-making structure, the ribosome. Using the new tool, the Los Alamos team led by Kevin Sanbonmatsu is the first to observe the entire ribosome in motion at atomic detail. Until now, only static, snapshot structures of the ribosome have been available.



RNA di trasferimento

- ▶ Le molecole di RNA di trasferimento (tRNA) sono polinucleotidi relativamente piccoli (23-30kD), che contengono da 73 a 94 residui, un numero sostanziale dei quali è mediato oppure modificato
- ▶ Il tRNA trae il proprio nome dal suo ruolo, come trasportatore di amminoacidi durante il processo di sintesi proteica.
- ▶ Ciascuno dei 20 amminoacidi delle proteine ha almeno una specie di tRNA specifico dedicato a guidare il suo trasporto verso i ribosomi, per l'inserzione nella catena polipeptidica crescente ed alcuni amminoacidi, invece, sono trasportati da diversi tRNA.



Sommario

Lezione 9: Acidi Nucleici

- Classi di acidi nucleici
- DNA: generalità
- DNA: Regole di Chargaff
- DNA: la doppia elica di Watson e Crick
- DNA: dimensioni della molecola
- RNA messaggero
- RNA ribosomiale
- RNA di trasferimento
- Piccoli RNA nucleari

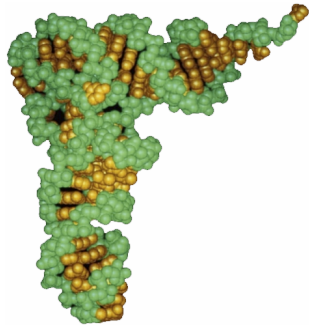


RNA di trasferimento

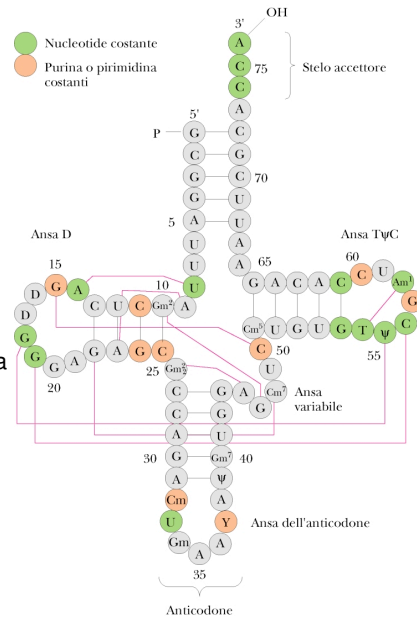
- ▶ Negli eucarioti esistono diversi gruppi di molecole di tRNA per ogni sito di sintesi delle proteine: il citoplasma, il mitocondrio e, nelle cellule delle piante, il cloroplasto.
- ▶ Tutte le molecole di tRNA possiedono al terminale -3' la sequenza nucleotidica -CCA e l'amminoacido è trasportato come estere acilico al 3'-OH del residuo A terminale.
- ▶ Questi amminoacil-tRNA sono i substrati della sintesi proteica, poiché gli amminoacidi vengono trasferiti all'estremità carbossilica del polipeptide crescente.
- ▶ La reazione di formazione del legame peptidico è un processo catalitico intrinseco al ribosoma.



RNA di trasferimento



- ▶ La struttura primaria, la struttura secondaria e le interazioni strutturali terziarie nel tRNA per la lenilalanina di lievito
- ▶ La molecola è presentata nella convenzionale struttura secondaria a trifoglio, generata da legami a idrogeno
- ▶ Le linee in grassetto collegano basi che formano legami a idrogeno nella struttura terziaria caratteristica dei tRNA.



Sommario

Lezione 9: Acidi Nucleici

- Classi di acidi nucleici
- DNA: generalità
- DNA: Regole di Chargaff
- DNA: la doppia elica di Watson e Crick
- DNA: dimensioni della molecola
- RNA messaggero
- RNA ribosomiale
- RNA di trasferimento
- Piccoli RNA nucleari

Piccoli RNA nucleari

Sub-Nuclear RNA (sn-RNA)

- ▶ I piccoli RNA nucleari o snRNA, sono classi di molecole di RNA che si trovano solo nelle cellule eucariotiche, principalmente nel nucleo
- ▶ contengono da 100 a 200 nucleotidi, alcuni dei quali come nel tRNA e rRNA, sono metilate o altrimenti modificate
- ▶ gli snRNA non esistono in forme isolate, ma si trovano in complessi stabili con proteine specifiche per formare particelle nucleari ribonucleoproteiche o snRNP, che sono di una dimensione di circa 10S.
- ▶ La loro presenza solo negli eucarioti, la loro localizzazione nel nucleo e la loro relativa abbondanza (dall'1% al 10% del numero di ribosomi) sono indici significativi del loro scopo biologico

Heterogeneous nuclear RNA (hnRNA)

is also called pre-mRNA. It's an incompletely-processed single strand of ribonucleic acid (RNA), and when it's completely processed it becomes mature mRNA.

- ▶ In nature, hnRNA of eukaryotic cells only exists for a brief time prior to its complete process into mRNA. During its processing, the hnRNA must be spiced to eliminate segments called introns; exons, the other type of segment, code for proteins, but introns are often made up primarily of junk coding and need to be thrown out.
- ▶ hnRNA is processed by spliceosomes, small organelles in the nucleus that are composed of protein and RNA. After eliminating the introns, other new non-coding segments are attached to the front and back ends (also called the 5' and 3' codons) of the new mRNA. After processing, the mRNA is ready to use by the ribosomes.
- ▶ The splicing process of hnRNA is of great interest to geneticists; it is undergoing research to determine how it might be usable to change DNA expression in a cell.

Piccoli RNA nucleari

sono importanti nella modificazione dei trascritti genici eucariotici (hnRNA) nell'RNA messaggero maturo per l'esportazione dal nucleo verso il citoplasma

