

DNA ED RNA

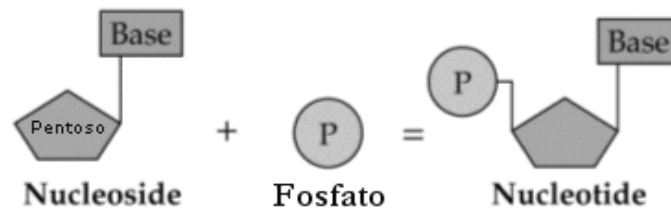
Gli acidi nucleici sono l'**acido desossiribonucleico** (DNA) e l'**acido ribonucleico** (RNA). La loro funzione è quella di contenere l'informazione genetica e renderla disponibile per guidare il metabolismo cellulare. Ogni organismo viene costruito e fatto funzionare a partire da un "progetto genetico" scritto nel suo DNA e reso operativo tramite il suo RNA.

Gli acidi nucleici presentano una struttura molecolare per molti versi analoga a quella delle proteine. Infatti, come le proteine, anche gli acidi nucleici sono costituiti da "collane" formate dalla successione ordinata di molecole più piccole. Ma mentre i mattoni che formano le proteine sono i 20 tipi di amminoacidi, gli acidi nucleici si formano a partire da 4 tipi di **nucleotidi**.

L'analogia tra la struttura molecolare delle proteine e quella degli acidi nucleici non è casuale. Le informazioni genetiche sono infatti "codificate" negli acidi nucleici come "successione dei nucleotidi". La cellula trasforma poi la successione dei nucleotidi in una ben precisa successione di amminoacidi. In altre parole, la particolare sequenza dei nucleotidi negli acidi nucleici rappresenta le informazioni genetiche necessarie per definire la struttura primaria di tutte le proteine di un organismo.

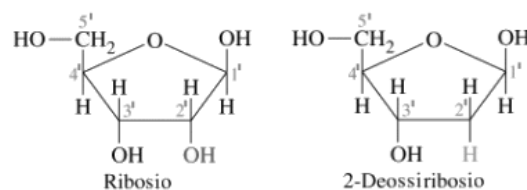
Un **nucleotide** è formato dall'unione di un **pentoso** che si lega ad una molecola di **acido fosforico** H₃PO₄ (gruppo fosfato) e ad una **base azotata** con **legami di condensazione**. In particolare si definisce **nucleoside** l'unione di un pentoso con una base azotata, mentre l'unione di un nucleoside con un gruppo fosfato genera un nucleotide.

Base + Pentoso = Nucleoside Nucleoside + Fosfato = Nucleotide



Il DNA è costituito da 4 tipi di nucleotidi diversi da quelli che formano l'RNA

Nei 4 nucleotidi del DNA il **pentoso** è il **desossiribosio** (o deossiribosio), una molecola di ribosio che ha perso un atomo di ossigeno, mentre nell'RNA il pentoso è il **ribosio**.



I 4 nucleotidi si differenziano tra di loro per le basi azotate.

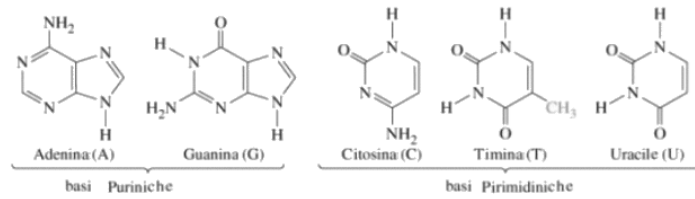
DNA	RNA	DNA	RNA
Adenina	Adenina	Guanina	Guanina
Timina	Uracile	Citosina	Citosina
=	=	≡	≡

In altre parole i nucleotidi dell'RNA si differenziano da quelli del DNA solo per lo zucchero (ribosio al posto di deossiribosio) e per l'Uracile che sostituisce la Timina.

Adenina e Guanina sono basi **puriniche**.

Citosina Timina ed Uracile sono basi **pirimidiniche**.

Lo zucchero lega la base azotata in posizione 1' (uno-primo) ed il gruppo fosfato in posizione 5' (cinque-primo).



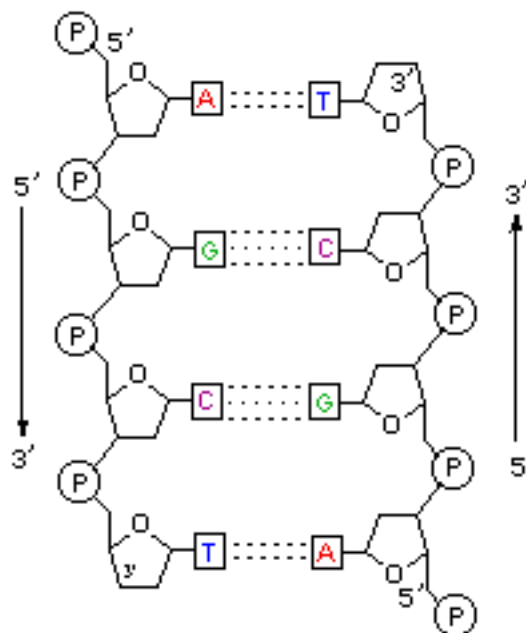
I nucleotidi si legano tra loro in successione tramite legami **fosfodiesteri**. L'ossidrilico libero in posizione 3' (tre-primo) del pentoso viene utilizzato per legare il gruppo fosfato del nucleotide successivo. In questo modo si forma una catena in cui si succedono zucchero e fosfato, mentre le basi azotate rimangono sporgenti. La catena presenta quindi una precisa direzionalità, presentando ad un estremo il carbonio 5' (impegnato con un gruppo fosfato) ed all'altro estremo il carbonio 3' libero (non legato al gruppo fosfato). Le catene degli acidi nucleici vengono sempre montate in direzione 5' → 3'. In natura il DNA si presenta con una struttura secondaria a **doppia elica** frutto dell'associazione di **due** singoli **filamenti**.

L'accoppiamento delle due catene si realizza attraverso la formazione di **ponti a idrogeno** tra le rispettive basi azotate, che vengono quindi a situarsi nella porzione centrale della struttura.

L'abbinamento fra i nucleotidi può realizzarsi soltanto tra basi cosiddette complementari, cioè fra adenina e timina, mediante due ponti a idrogeno (A=T), o tra citosina e guanina, mediante tre ponti a idrogeno (C=G).

Le due catene, per fronteggiarsi, devono opporre una **direzionalità** inversa, essendo l'una diretta da 3' a 5', e l'altra, necessariamente, da 5' a 3', da cui è nato il termine di eliche **antiparallele**.

La **complementarietà** dei due filamenti ha una conseguenza fondamentale. Infatti, qualora sia stabilita l'esatta successione di basi di un filamento, si può ricavare, seguendo semplicemente le leggi della complementarietà, la serie di nucleotidi del filamento corrispondente.



FUNZIONI DEL DNA

Le sue funzioni, strettamente correlate alla sua natura di deposito di informazioni, sono:

- Rendere disponibili le **informazioni genetiche** per la **costruzione** ed il corretto funzionamento dell'organismo. Tale funzione viene mediata da molecole di RNA che copiano le informazioni genetiche (**trascrizione**) e le trasformano (**traduzione**) in proteine (**sintesi proteica**). Le diverse sequenze di nucleotidi, caratteristiche del DNA di un organismo, definiscono infatti quali amminoacidi debbano succedersi nella costituzione delle sue proteine. Tra le proteine sintetizzate vi sono naturalmente anche gli enzimi, prodotti per controllare le reazioni di cui la cellula necessita. In questo modo il DNA controlla, attraverso la sintesi degli enzimi, tutto il metabolismo cellulare
- Generare **copie** delle **informazioni genetiche** (**uplicazione** del DNA) in modo da rendere disponibile l'intero progetto genetico per le nuove cellule che si formano.

Tutte le funzioni svolte dal DNA sono rese possibili grazie alla complementarità delle basi azotate.

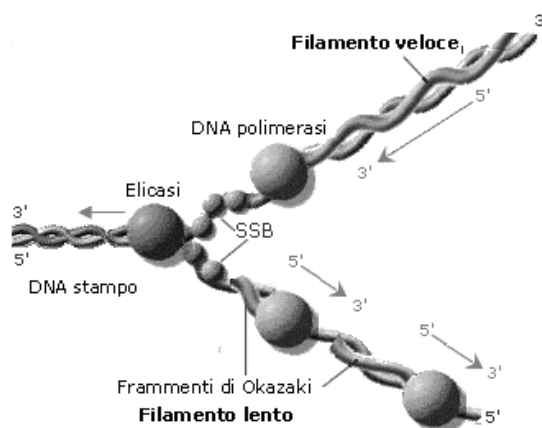
Duplicazione

Nel processo di duplicazione la doppia elica viene aperta dall'enzima elicasi che, rompendo i ponti ad idrogeno che tengono unite le basi azotate complementari, separa i due filamenti e forma una struttura ad Y detta forcella di replicazione. La forcella di replicazione viene stabilizzata dalle proteine SSB. Un altro enzima (**DNA-polimerasi**) provvede poi ad agganciare su ognuno dei due filamenti esposti dei nucleotidi complementari. Poiché in ciascuna di queste due copie sopravvive **metà** della molecola originaria, tale processo è anche noto come sintesi **semiconservativa**.

Per le caratteristiche intrinseche al legame stesso, la costruzione dei nuovi filamenti avviene solo in direzione **5'→3'**. Ed avendo il DNA due filamenti antiparalleli, la sintesi dei due nuovi filamenti avviene necessariamente in direzioni opposte.

Un filamento, detto filamento veloce viene sintetizzato in modo **continuo**, poiché la DNA-polimerasi avanza nella stessa direzione dell'elicasi.

L'altro filamento, detto filamento lento viene sintetizzato in modo **discontinuo**, con la formazione di segmenti di DNA detti **frammenti di Okazaki**, che vengono successivamente saldati dall'enzima **DNA-ligasi**.



La DNA-polimerasi necessita di un **innesco**, cioè di una breve sequenza di RNA (**RNA primer**) da cui partire per sintetizzare il nuovo filamento, dal momento che è in grado solo di aggiungere nucleotidi a una catena preesistente, che fornisca una estremità 3'-ossidrilica libera. Inoltre la DNA-polimerasi possiede un secondo sito attivo in grado di controllare che l'attività di **appaiamento delle basi** sia avvenuta correttamente e di correggere eventuali errori. Nel caso vengano individuati errori nel processo di duplicazione la DNA-polimerasi torna indietro a correggerli. Questa funzione di correzione è definita **proofreading activity**.

La duplicazione del DNA avviene **contemporaneamente** in più punti della molecola, con le forcelle di replicazione che si allontanano in direzioni opposte formando **bolle di replicazione**, destinate ad estendersi ed a fondersi.

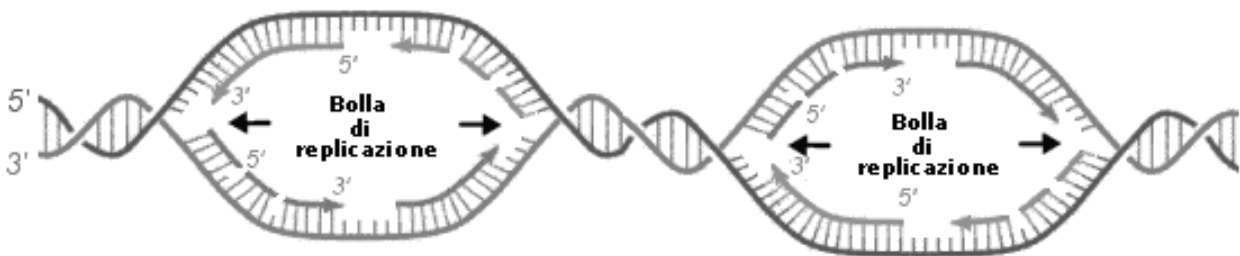
I frammenti di Okazaki vengono successivamente saldati dalla DNA-ligasi, mentre i primer di RNA vengono rimossi e sostituiti da analoghi filamenti di DNA da un enzima della famiglia delle DNA-polimerasi.

LA STRUTTURA DELL'RNA

Come abbiamo già visto l'RNA è costituito da una catena di nucleotidi in cui lo zucchero è il **ribosio** e la Timina è sostituita dall'Uracile. La complementarità delle basi è in questo caso **Adenina-Uracile** e **Citosina-Guanina**.

Mentre il DNA è una molecola di grandi dimensioni e notevolmente stabile, gli **RNA** sono più **piccoli**, hanno **vita limitata** e inoltre sono caratterizzati da una struttura a **singolo filamento**.

Le molecole di RNA possono ripiegarsi su se stesse in modo tale da permettere la formazione di legami ad idrogeno tra basi complementari appartenenti a tratti diversi e distanti della medesima catena con formazione di zone a struttura secondaria elicoidale.



Le molecole di RNA vengono sintetizzate utilizzando un filamento di DNA come stampo sul quale vengono appaiati i singoli nucleotidi complementari dell'RNA (**trascrizione**).

Spesso la forma funzionale di un RNA è più corta rispetto al trascritto primario. Il passaggio dalla forma primaria inattiva a quella finale funzionale avviene ad opera di enzimi specifici che rimuovono alcune zone della molecola (**intron**) e saldano quelle rimanenti (**esoni**) attraverso un processo di taglia-incolla detto **splicing**.

FUNZIONI DELL'RNA

L'RNA permette al DNA di trasformare le informazioni in esso contenute in proteine. Esistono 3 tipi di RNA, tutti coinvolti nella sintesi proteica.

- **RNA ribosomiale (rRNA)** che va a formare i ribosomi, organuli cellulari che "**traducono**" le sequenze nucleotidiche in sequenze proteiche;
- **RNA messaggero (mRNA)** che copia le informazioni contenute nel DNA (**trascrizione**) e le trasferisce ai ribosomi per la traduzione;
- **RNA di trasporto (tRNA)** che porta gli amminoacidi ai ribosomi affinché li saldino in catene proteiche (**sintesi proteica**).

SINTESI PROTEICA

Come abbiamo già detto il DNA contiene le informazioni necessarie per posizionare nella giusta successione gli amminoacidi di una proteina. Il tratto di DNA che "codifica" per una particolare proteina si definisce "gene". Le informazioni "genetiche" sono codificate nella struttura primaria del DNA, sono cioè scritte nella successione delle sue basi azotate.

Nel descrivere la sintesi proteica si utilizza una metafora linguistica, in cui esistono due linguaggi: quello del DNA con un alfabeto di 4 lettere (le basi azotate) e quello delle proteine con un alfabeto di 20 lettere (gli amminoacidi).

Le informazioni devono pertanto essere "tradotte" da un linguaggio ad un altro. Ovviamente per effettuare la traduzione e "decifrare" un "messaggio codificato" è necessario possedere il "codice" che fornisce la corrispondenza tra i simboli dei due linguaggi.

Il "codice genetico" definisce dunque il modo in cui la successione delle basi azotate del DNA deve

essere tradotta nella corretta successione di amminoacidi di una proteina. Ovviamente non vi può essere una corrispondenza biunivoca tra basi azotate ed amminoacidi (4 contro 20). Si è scoperto che il “vocabolario” del DNA è formato da 64 “parole”, formate dalla combinazione delle quattro “lettere” A T C G (basi azotate) prese a gruppi di tre. Ciascun amminoacido viene dunque “codificato” da una particolare **tripletta** di basi o **codone**. I codoni sono le triplette già trascritte nella molecola dell’RNA messaggero e quindi con l’Uracile al posto della Timina.

Esistono più triplette che codificano per il medesimo amminoacido (**ridondanza del codice genetico**), ma ciascuna tripletta non può, ovviamente, codificare per amminoacidi diversi. Esistono anche triplette che non codificano per alcun amminoacido, dette triplette “not-sense”, che la cellula utilizza come “segni di interpunzione” durante la traduzione dell’informazione per segnalare la fine (stop) della sintesi della proteina.

UUU UUC	phenyl alanine	UCU UCC UCA UCG	serine	UAU UAC	tyrosine	UGU UGC	cysteine
UUA UUG	leucine			UAA UAG	stop	UGA UGG	stop tryptophan
CUU CUC CUA CUG	leucine	CCU CCC CCA CCG	proline	CAU CAC	histidine	CGU CGC CGA CGG	arginine
AUU AUC AUA	isoleucine	ACU ACC ACA ACG	threonine	AAU AAC	asparagine	AGU AGC	serine
AUG	methionine			AAA AAG	lysine	AGA AGG	arginine
GUU GUC GUA GUG	valine	GCU GCC GCA GCG	alanine	GAU GAC	aspartic acid	GGU GGC GGA GGG	glycine
				GAA GAG	glutamic acid		

Il processo di **sintesi proteica** si articola in due fasi: **trascrizione** e **traduzione** dell’informazione genetica. Nella fase di trascrizione l’informazione viene trasferita dal DNA all’RNA, mentre nella fase di traduzione l’informazione passa dall’RNA alle proteine

SINTESI PROTEICA FASE DI TRASCRIZIONE

Nella fase di inizio l’RNA-polimerasi si lega alla doppia catena del DNA, aprendola in corrispondenza di una particolare sequenza, chiamata **promotore**. Il promotore è una speciale sequenza di nucleotidi che non verrà trascritta, situata sul DNA all’inizio del gene. Successivamente l’RNA-polimerasi scorre lungo il DNA rompendo i ponti Idrogeno tra le basi azotate complementari ed aprendo la doppia elica. In questo modo una delle due catene viene esposta alla copiatura e fa da stampo per la sintesi di una molecola di RNA messaggero ad essa complementare. Quando, durante la trascrizione, nel DNA si incontreranno particolari sequenze di basi alla fine del gene (**terminatore**) si avrà il termine della trascrizione. Il filamento di RNA messaggero si stacca ed il DNA si richiude e si riavvolge

La direzione di lettura del DNA è 3’→5’ mentre quella di trascrizione è 5’→3’.

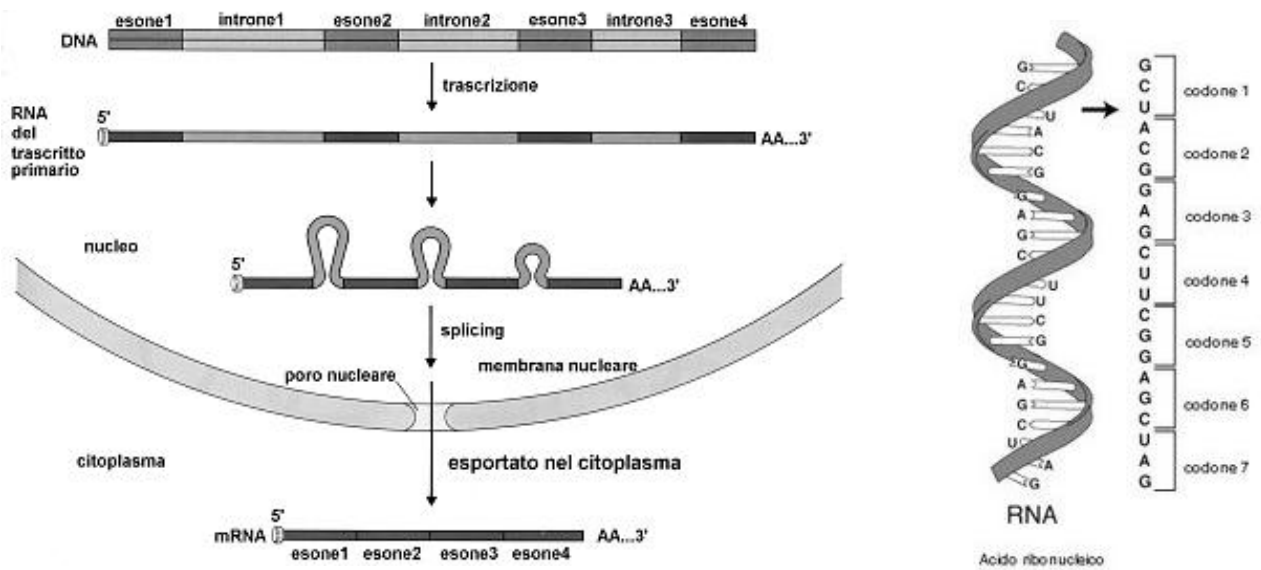
Il prodotto della trascrizione è denominato **trascritto primario** e consiste probabilmente in un filamento di RNA che si estende dal promotore al terminatore.

La fase cruciale della produzione delle diverse forme di RNA è la maturazione a partire dai precursori. I complessi trascritti primari degli rRNA e tRNA di procarioti ed eucarioti vengono modificati in forme mature più semplici. Gli mRNA dei procarioti non subiscono quasi mai modificazioni, mentre l’assemblaggio dell’mRNA degli eucarioti è piuttosto complesso.

Negli **eucarioti** la trascrizione genera dei precursori nucleari degli mRNA (trascritti primari) caratterizzati dalla presenza di modificazioni chimiche all’estremità 5’ e dalla presenza di **zone non codificanti** (introni). Tali precursori vengono in seguito convertiti negli mRNA maturi attraverso un processo (**splicing**) che prevede la **rimozione** degli introni e il **ricongiungimento** delle parti

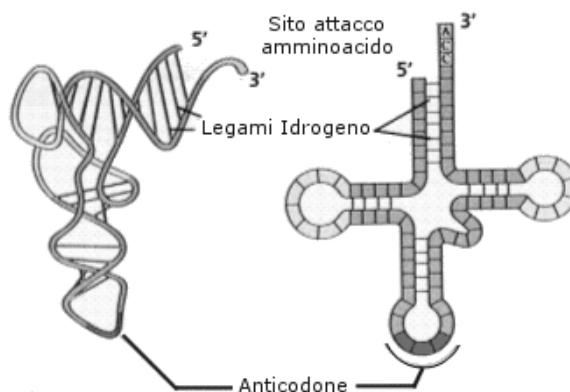
codificanti (**esoni**). Una volta maturati, gli mRNA, passano nel citoplasma per svolgere la loro funzione nella sintesi proteica.

L'RNA messaggero (mRNA) rappresenta la classe di RNA più eterogenea; infatti è costituita da filamenti contenenti tanti codoni quanti sono gli amminoacidi delle proteine da loro codificate.



Ogni mRNA è caratterizzato dal **codone d'inizio (AUG)**. I tre codoni **UAA**, **UGA** e **UAG** rappresentano invece il segnale di **terminazione** della **sintesi** della **catena polipeptidica**.

L'RNA di trasporto (tRNA) trasferisce ai ribosomi i vari amminoacidi che, uniti tra loro con legame peptidico, formano le proteine. Molti trascritti primari che originano dai geni per i tRNA sono discretamente più lunghi rispetto alle piccole molecole mature che si riversano nel citoplasma e che contengono molte basi modificate. I tRNA maturi sono costituiti da 75-80 nucleotidi che si appaiano tra loro, interrotte da tratti a singolo filamento. Tale situazione determina una particolare conformazione a "trifoglio", caratteristica per tutti i tRNA. La parte più caratteristica della molecola del tRNA è l'ansa terminale, detta **anticodone** poiché porta tre basi complementari ai codoni degli mRNA.

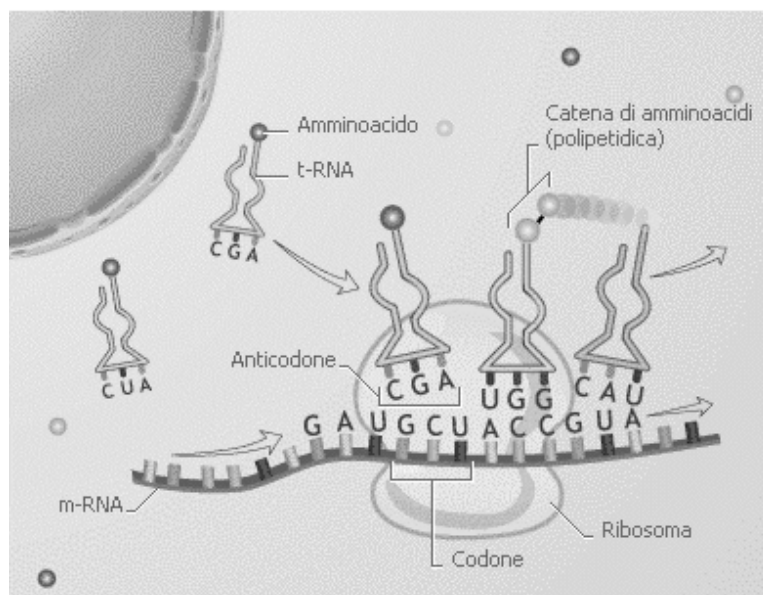


Gli RNA ribosomiali (**rRNA**) costituiscono una famiglia di molecole che, **assemblate** insieme a più di 50 diverse **proteine**, formano i **ribosomi**. I ribosomi sono gli organuli citoplasmatici che utilizzano le informazioni genetiche dell'RNA messaggero e gli amminoacidi portati dagli RNA di trasporto per **assemblare** le **proteine**. Sono costituiti da **due subunità** ed è formato da 3 siti: E, P e A.

TRADUZIONE

Nella fase di traduzione, l'**informazione genetica**, contenuta nell'RNA messaggero come sequenza di codoni (triplette di basi), viene **letta** dai ribosomi in direzione 5' → 3' e **trasformata** nella corrispondente **sequenza di amminoacidi (proteina)** grazie al codice genetico.

- Il filamento di **mRNA** contenente l'informazione si **inserisce** tra le due **subunità** del ribosoma, il quale si posiziona sui primi due codoni.
- I tRNA, aventi gli anticodoni complementari si agganciano ai codoni, posizionando in tal modo gli amminoacidi trasportati uno accanto all'altro. Gli **amminoacidi** vengono **saldati** con **legame peptidico** ed il primo tRNA esce dal ribosoma lasciando il suo amminoacido sulla catena proteica in via di formazione
- Il ribosoma **scivola** sul filamento di mRNA, scalando di un codone e posizionandosi sul secondo e terzo codone. Una terza molecola di tRNA si aggancia al terzo codone permettendo l'aggancio del suo amminoacido ai due precedenti. Il secondo tRNA si sgancia lasciando il suo amminoacido sulla catena proteica in via di formazione
- La traduzione **procede** con il **medesimo meccanismo**, con il ribosoma che avanza di un codone per volta ed un tRNA che entra carico del suo amminoacido ed uno che esce scarico del suo amminoacido.
- Il processo **termina** quando il ribosoma trova un **codone di terminazione**. Il filamento proteico si stacca e viene liberato nel citoplasma dove assume la sua conformazione nativa.



Un filamento di **mRNA** può essere **letto e tradotto più volte** in modo da ottenere più copie della medesima proteina. La **traduzione** può essere fatta **contemporaneamente** da **più ribosomi** che si infilano sul **medesimo filamento**.

LA REGOLAZIONE DELL'ESPRESSIONE GENICA

Tutte le cellule di un organismo pluricellulare possiedono lo stesso genoma. Tuttavia ogni cellula si specializza nell'eseguire determinate funzioni ed utilizza solo una parte delle informazioni contenute nel suo DNA (esprime solo certe proteine). Per ogni tipo cellulare inoltre, il tipo e la quantità di proteine prodotte dipendono anche dalle necessità che la cellula presenta in un determinato istante. Le cellule devono dunque possedere dei meccanismi che permettano loro di esprimere certi geni e silenziarne altri.

Si distinguono geni costitutivi che sono costantemente attivi e geni regolati la cui espressione è regolata in relazione al fabbisogno cellulare.

I meccanismi di regolazione genica più semplici e meglio compresi sono quelli utilizzati dai procarioti (batteri). I batteri utilizzano sistemi di regolazione genica noti come "operoni".

L'operone è una unità funzionale del DNA costituita da un gruppo di geni contigui strettamente correlati, **responsabili** della sintesi coordinata di una proteina e della **regolazione della sintesi** stessa.

Un operone contiene:

- uno o più **geni strutturali** destinati ad essere trascritti (sintesi mRNA) e ad esprimere la proteina;
- un **promotore** che precede i geni strutturali, costituito da una particolare sequenza di DNA che indica dove debba iniziare la trascrizione. Un promotore occupa una posizione adiacente al gene o al gruppo di geni di cui controlla la trascrizione e la sua funzione è quella di rappresentare una zona di riconoscimento e di attacco per una molecola di RNA polimerasi, l'enzima deputato alla sintesi di RNA messaggero (mRNA) a partire da uno stampo di DNA
- un gene **operatore** che controlla l'espressione genica dei geni strutturali.

L'azione dell'operatore è a sua volta sotto controllo di un gene regolatore che non fa parte dell'operone.