

Acidi nucleici

RNA

<http://www.uic.edu/classes/phys/phys461/phys450/ANJUM04/>

I Nucleotidi Hanno Tre Componenti

Base + Ribose or deoxyribose = Nucleoside + Phosphate = Nucleotide

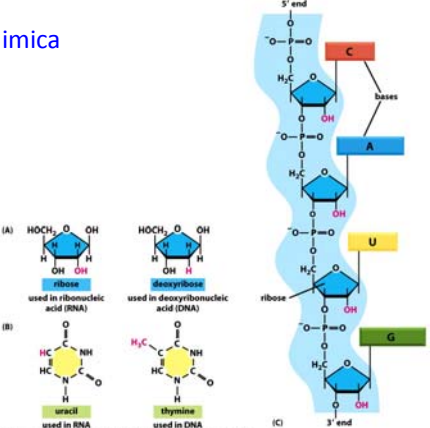
Pyrimidines

- Cytosine (C)
- Thymine (T) - Solo DNA
- Uracil (U) - Solo RNA

Purines

- Adenine (A)
- Guanine (G)

Struttura chimica del RNA



(A) ribose used in ribonucleic acid (RNA); deoxyribose used in deoxyribonucleic acid (DNA)

(B) uracil used in RNA; thymine used in DNA

(C) RNA strand with bases C, A, U, G

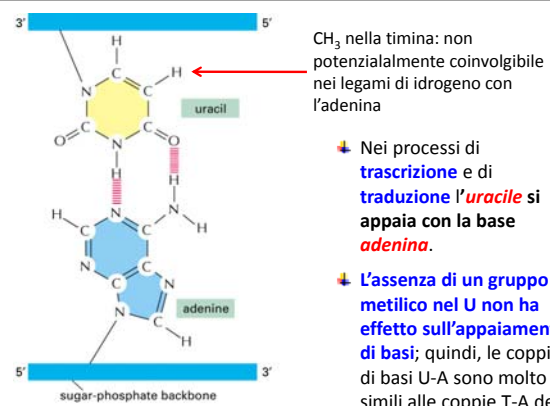
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK26887/figure/A978/?report=objectonly>

Figure 6-4 Molecular Biology of the Cell 5/e (© Garland Science 2008)

RNA

- Da un punto di vista chimico, l'**RNA** è molto simile al **DNA**. Tuttavia, ci sono alcune **differenze** principali:
 - L'RNA usa lo zucchero **RIBOSIO** invece del **Desossiribosio** nel suo scheletro ("backbone").
 - L'RNA usa la base **URACILE** (U) invece della **Timina** (T). Anche U è complementare ad A.
 - L'RNA tende ad essere a **singolo filamento** ("single strand"), ma **alcune regioni possono ripiegarsi formando zone a doppio filamento**.
- Differenze funzionali tra RNA e DNA
 - Il DNA ha una singola funzione; l'RNA ha molteplici funzioni
- Esempi di tipi di RNA: tRNA, mRNA, rRNA, microRNA, ecc.

Trascrizione: Sintesi dell'RNA a partire dal DNA. **I due filamenti di DNA si svolgono** ed **uno è usato come stampo ("template")** per la **sintesi di un filamento complementare di RNA.**



TIPI PRINCIPALI DI RNA

Tipo di RNA	Funzione
mRNA	RNA messaggeri , codificano per proteine
rRNA	RNA ribosomiali , formano la struttura di base dei ribosomi e catalizzano la sintesi proteica
tRNA	RNA transfer , fondamentali per la sintesi proteica come adattatori fra mRNA e aminoacidi
snRNA	piccoli RNA nucleari , agiscono in una varietà di processi nucleari, compreso lo splicing del pre-mRNA
snoRNA	piccoli RNA nucleolari , usati per processare e modificare chimicamente gli rRNA
Altri RNA non codificanti	Agiscono in diversi processi cellulari, compreso sintesi dei telomeri, disattivazione del cromosoma X, trasporto di proteine nell'ER, regolazione genica (microRNA)* .

Funzione e struttura del RNA

- La struttura terziaria del RNA è simile a quella del DNA, ma ci sono diverse differenze importanti:
 - Il RNA di solito forma **coppie di basi intramolecolari**
 - L'informazione trasportata dal RNA non è ridondante perchè queste **coppie di basi sono intramolecolari**.
 - I solchi maggiore e minore sono molto meno pronunciati.
 - Tutti i ruoli svolti dal RNA (**strutturale, adattatore informativo, trasferimento di informazione**) sono coinvolti nella decodificazione delle istruzioni celate nel DNA.

Trascrizione: Sintesi del RNA

La reazione di allungamento della catena catalizzata dall'enzima RNA polimerasi. Ad ogni passo viene selezionato un **ribonucleotide trifosfato** dalla sua capacità di accoppiarsi con il filamento della doppia elica del DNA esposto che funge da "stampo" ("template"); viene quindi aggiunto un **ribonucleotide monofosfato** all'estremità 3'-OH della catena di RNA (freccia rossa), e viene rilasciato il pirofosfato (Pi-Pi; atomi rossi). Quindi, **la nuova catena di RNA cresce un nucleotide alla volta, in direzione 5'-3', ed è complementare alla sequenza del filamento stampo del DNA.** La reazione è resa energeticamente favorevole dai cambiamenti di energia libera che accompagnano il rilascio di pirofosfato e dall'ulteriore idrolisi del pirofosfato a fosfato inorganico.

Trascrizione

Argomento corso Genetica

http://kemccallum.edublogs.org/2011/06/07/3-5-2-transcription/

Trascrizione (1)

Argomento corso Genetica

- ✚ La trascrizione è simile al processo di replicazione del DNA in quanto per sintetizzare un nuovo filamento di RNA viene usato come **stampo («template»)** il DNA.
- ✚ La RNA polimerasi usa **ribonucleosidi trifosfato** (rNTP: **rATP, rUTP, rCTP, rGTP**) per sintetizzare i filamenti di RNA in direzione 5'-3'.
- ✚ La RNA polimerasi catalizza la formazione dei legami fosfodiesterici che collegano i ribonucleotidi fra di loro per formare una catena lineare.

http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK26887/
http://en.wikibooks.org/wiki/Structural_Biochemistry/Transcription

Trascrizione (2)


Argomento corso Genetica

- ✚ La RNA polimerasi si muove lungo il DNA, svolgendo la doppia elica appena davanti al sito attivo per la polimerizzazione in modo da esporre una nuova regione del filamento stampo per potere avere un appaiamento di basi complementari.
- ✚ In questo modo la catena di RNA crescente viene aumentata da un nucleotide alla volta nella **direzione 5'-3'**:

Argomento
corso **Genetica**

Trascrizione (3)

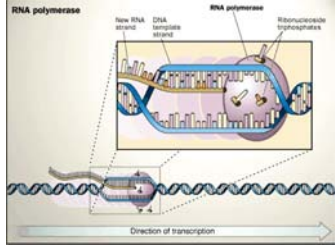
- Il quasi immediato rilascio della catena di RNA dal DNA mentre viene sintetizzato significa che è possibile ottenere **molte copie di RNA dallo stesso gene** in un periodo di tempo relativamente breve, in quanto la sintesi di nuove molecole di RNA iniziano prima che il primo RNA sia completato.
- Negli eucarioti le molecole di RNA polimerasi si rincorrono alla velocità di 20 nucleotidi/sec, permettendo la sintesi di migliaia di trascritti/h a partire da uno stesso gene.



The micrograph shows many molecules of RNA polymerase simultaneously transcribing each of two adjacent genes. Molecules of RNA polymerase are visible as a series of dots along the DNA with the newly synthesized transcripts (fine threads) attached to them.

Argomento
corso **Genetica**

RNA POLIMERASI



- Le **RNA polimerasi** sono enzimi che catalizzano la **formazione del RNA usando uno stampo ("template") sul DNA.**
- I substrati della reazione sono i **nucleotidi-trifosfato**
- L'**accesso** della RNA polimerasi allo stampo è **regolato**, sia nei procarioti che negli eucarioti
- I procarioti hanno una singola RNA polimerasi
- Gli eucarioti hanno tre tipi di RNA polimerasi**

Argomento
corso **Genetica**

Trascrizione e maturazione del RNA negli eucarioti (1)

- Nelle cellule eucarioti ci sono tre distinti enzimi di trascrizione, ognuno dei quali è responsabile della sintesi di gruppi diversi di RNA:
 - RNA polimerasi I:** sintetizza i grandi RNA ribosomali (28S, 18S e 5,8 S)
 - RNA polimerasi II:** sintetizza gli RNA messaggeri e la maggior parte dei piccoli RNA nucleari
 - RNA polimerasi III:** sintetizza gli RNA a basso peso molecolare, compresi gli RNA di trasferimento e l'RNA ribosomico 5S.
- Nessun procariote possiede più di una RNA polimerasi, mentre gli eucarioti più semplici (lieviti) hanno gli stessi tipi di polimerasi che sono presenti nelle cellule dei mammiferi.

➡ Ulteriore distinzione fra procarioti ed eucarioti.

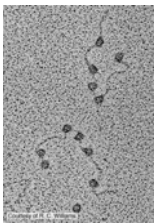
RNA polimerasi nelle cellule eucariotiche

Tipo di polimerasi	Geni trascritti
RNA polimerasi I	geni degli rRNA 5.8S, 18S e 28S
RNA polimerasi II	tutti i geni che codificano proteine, più geni di snRNA e alcuni geni di snRNA
RNA polimerasi III	geni dei tRNA, geni di rRNA 5S, alcuni geni di snRNA e geni per altri piccoli RNA
RNA polimerasi mitocondriale*	geni mitocondriali
RNA polimerasi dei cloroplasti*	geni dei cloroplasti

*Le RNA polimerasi mitocondriale e dei cloroplasti sono simili agli enzimi batterici

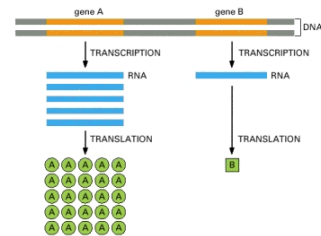
Argomento
corso Genetica **Trascrizione e maturazione del RNA negli eucarioti (cont.)**

Le polimerasi degli eucarioti sono enzimi estremamente complessi, che contengono da 8 a 14 polipeptidi distinti (subunità) e sono abbastanza grandi da essere visualizzati al microscopio elettronico:



Oltre alle subunità, che costituiscono gli enzimi, **ciascuna delle polimerasi è coadiuvata nelle sue funzioni da proteine ausiliarie: fattori di trascrizione:**

- **Fattori generali di trascrizione:** necessari alla polimerasi per iniziare la trascrizione;
- **Fattori specifici di trascrizione ("proteine regolatrici dei geni"):** determinano la velocità alla quale un **particolare** gene o gruppo di geni viene trascritto.



I geni possono essere espressi con efficienza diversa.

Il gene A è trascritto e tradotto in modo molto più efficiente del gene B. Ciò fa sì che la quantità di proteina A nella cellula sia molto maggiore di quella della proteina B.

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK26887/figure/A976/?report=objectonly>

TERMINOLOGIA DEL PROCESSAMENTO DEL DNA E DEL RNA

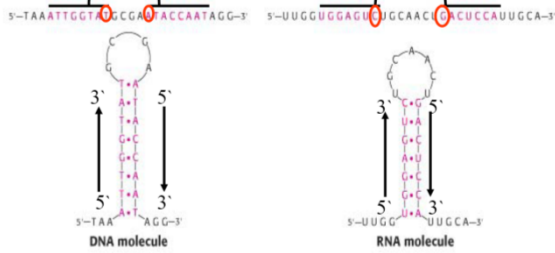
Termine	Significato letterale	Processo in cui sono coinvolti gli acidi nucleici
Replicazione	Fare un duplicato identico	Usare una molecola di DNA come riferimento per ottenere due copie di molecole figlie identiche
Trascrizione	Copiare informazione da un supporto ad un altro, come avviene ad es. quando si passa da un nastro audio ad un testo scritto	Copiare la sequenza di basi di una molecola di DNA sotto forma di sequenza di basi di una molecola di RNA
Traduzione	Prendere informazione da una lingua e convertirla in un'altra lingua	Prendere la sequenza di codoni del mRNA e convertirla in una catena di aminoacidi di una proteina

Maturazione del RNA

- ⚡ **TRASCritto PRIMARIO:** molecola di RNA appena prodotta per trascrizione del DNA.
- ⚡ **MATURAZIONE:** Modificazioni chimiche necessarie per produrre un mRNA funzionale a partire dal trascritto primario (precursore). Esempi:
 - RIMOZIONE DI REGIONI DEL TRASCritto PRIMARIO (es. «splicing» del mRNA).
 - AGGIUNTA DI GRUPPI CHIMICI PARTICOLARI ALLE ESTREMITA' (es. capello di metilguanina all'estremità 5' e di una coda di poliA all'estremità 3' del mRNA)
 - AGGIUNTA DI MODIFICAZIONI DI SPECIFICI NUCLEOTIDI (particolarmente negli tRNA).
 - Associazione con proteine.
 - Passaggio dal nucleo al citoplasma

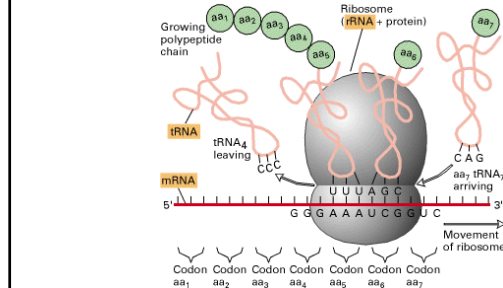
I filamenti singoli del DNA e l'RNA possono formare "hairpins" (forcine dei capelli) elicoidali

Complementary when reversed (fold back and base pair)



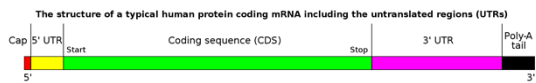
Stem-loop (hairpin) structures

[Fig. 5.19]



I tre ruoli dell'RNA nella sintesi proteica.

L'RNA messaggero (mRNA) viene tradotto in una proteina mediante l'azione concertata dell'RNA di trasferimento (tRNA) e del ribosoma, che è composto da numerose proteine e da due principali molecole di RNA ribosomale (rRNA).



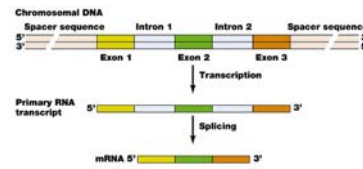
RNA

RNA MESSAGGERO (mRNA)

http://en.wikipedia.org/wiki/Messenger_RNA

STRUTTURA DEI GENI DEGLI EUCARIOTI

- La maggior parte dei geni degli eucarioti contiene segmenti di **sequenze codificanti (esoni)** interrotte da **sequenze non-codificanti (introni)**.
- Le sequenze di spaziatura ("**spacers**") sono lunghe **sequenze di DNA non codificanti che rimangono fra i geni**.



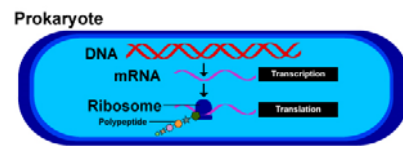
Cooper - The Cell, a Molecular Approach (2nd ed.)

mRNA (1)

- Il **RNA messaggero** o **mRNA** è una **copia dell'informazione trasportata da un gene sul DNA**.
- Il ruolo del mRNA è quello di **trasportare l'informazione contenuta nel DNA fino all'apparato di traduzione**.
- Il mRNA è **eterogeneo** in dimensioni e sequenza.

Processamento del mRNA trascritto (1)

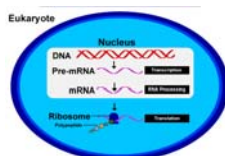
- ✚ Nei **procarioti**, che non possiedono un nucleo, la traduzione di una molecola di mRNA per dare una proteina può iniziare dall'estremità 5' anche quando l'estremità 3' viene trascritta dal DNA.
- ✦ Perciò, la **trascrizione** e la **traduzione possono avere luogo contemporaneamente**.



<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK21644/#A850>
<https://wikispaces.psu.edu/display/Biology/From+Gene+to+Protein>

Processamento del mRNA trascritto (2)

- ✚ Negli **eucarioti**, non solo il nucleo è separato dal citoplasma dove avviene la sintesi proteica, ma **l'RNA trascritto primario del gene che codifica per la proteina può subire diverse modificazioni**, chiamate complessivamente «**processamento del RNA**», che producono un mRNA funzionale.
- ✚ Perciò, negli eucarioti, la **trascrizione** e la **traduzione non** possono avere luogo simultaneamente.



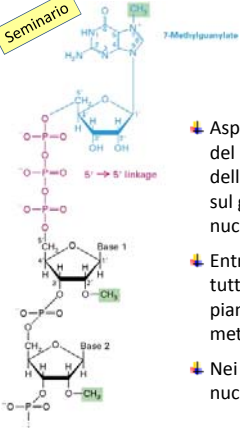
Processamento del mRNA trascritto (3)

- ✚ I passi iniziali del processamento di tutti gli RNA trascritti primari **hanno luogo alle due estremità** e queste modificazioni sono trattenute nei mRNAs.
- ✚ All'estremità 5' del 1° nucleotide del trascritto primario viene adizionato un **cappello 5'** («5' cap») che potrebbe servire per proteggere il mRNA dalla degradazione enzimatica.
- ✚ Questa modificazione ha luogo prima che la trascrizione sia completata.
- ✚ Il cappello 5' serve inoltre per il legame del mRNA al ribosoma dove avviene la traduzione.

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK21644/#A850>

Seminario

Struttura del cappello 5'-metilato del mRNA degli eucarioti



- Aspetti chimici distintivi sono il legame 5'-5' del 7-metilguanilato al nucleotide iniziale della molecola di mRNA e il gruppo metilico sul gruppo 2'-idrossile del ribosio nel primo nucleotide (base 1).
- Entrambe queste caratteristiche si trovano in tutte le cellule animali e nelle cellule delle piante superiori; i lieviti mancano del gruppo metilico sulla base 1.
- Nei vertebrati anche il ribosio del secondo nucleotide (base 2) è metilato.

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK21644/figure/AB51/>

Seminario

Processamento del trascritto del mRNA (4)

- Il processamento dell'estremità 3' del trascritto primario coinvolge la scissione mediante una endonucleasi per dare un gruppo 3'-OH a cui vengono aggiunte una stringa di residui di acido adenilico da un enzima chiamato *poli(A) polimerasi*.
- La **coda di poli(A)** risultante contiene 100-250 basi, essendo più corta nei lieviti e negli invertebrati che nei vertebrati.
- La poli(A) polimerasi fa parte di un complesso di proteine che aggiunge la coda di poli(A).
- La coda di poli(A) rende la molecola più stabile e impedisce la sua degradazione.**

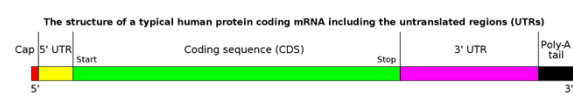


<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK21644/#A850>
<http://www.nature.com/isa/stable/definition/poly-a-tail-276>

Seminario

Coda poli A dell'estremità 3' del mRNA

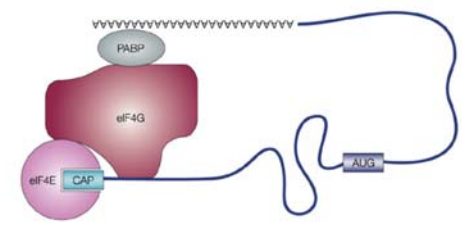
- La poliadenilazione è un legame covalente di una frazione poliadenilata alla molecola di mRNA. Negli organismi eucarioti, con l'eccezione degli istoni, tutti i mRNA sono poliadenilati nell'estremità 3'. La coda di poli (A) e la proteina ad esso legata aiutano a proteggere il mRNA dalla degradazione da parte delle exonucleasi. La poliadenilazione è inoltre importante per la terminazione della trascrizione, per l'esportazione del mRNA dal nucleo, e per la traduzione.



The structure of a typical human protein coding mRNA including the untranslated regions (UTRs)

http://en.wikipedia.org/wiki/Messenger_RNA#Polyadenylation

Session 2: Coding RNA – the ribosome
 Ariane Heinrichs



Circularizzazione del mRNA.
 La comunicazione tra il cappello all'estremità 5' e la coda di poli(A) dell'estremità 3' del mRNA permette un **aumento della traduzione**. Ciò si verifica quando la proteina legante poli(A) (PABP) interagisce con il fattore di inizio della traduzione (eIF4G) che, a sua volta, interagisce con la proteina eIF4E legante il cappello 5', ravvicinando le due estremità 5' e 3' del mRNA.

http://www.nature.com/horizon/ma/highlights/figures/s2_spec1_f1.html

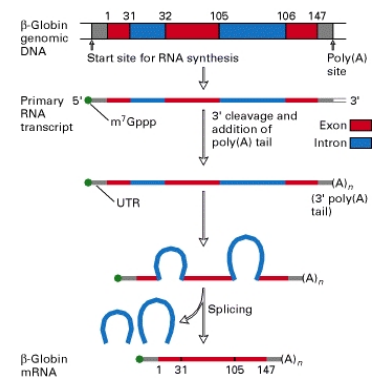
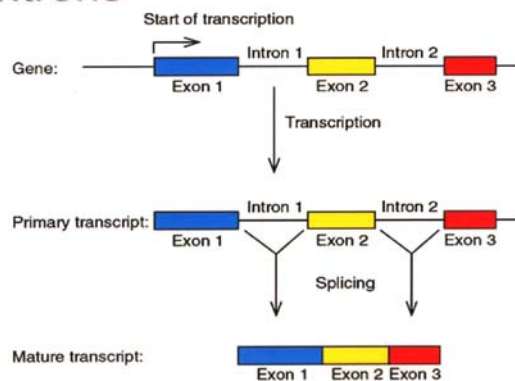
Processamento del trascritto del mRNA (5)

- Il passo finale del processamento di molte molecole diverse di mRNA degli eucarioti è detto «**splicing**»:
- Scissione interna del trascritto primario di RNA per **scindere gli introni**, seguita dal **collegamento degli esoni codificanti**.
- Molti mRNA degli eucarioti possiedono inoltre regioni noncodificanti ad ogni estremità: «**5' and 3' untranslated regions**» (**UTRs**).

mRNA

- Il mRNA non viene sintetizzato direttamente nella cellula eucariotica.
- Esso è trascritto nel nucleo sotto forma di RNA nucleare eterogeneo («**heterogeneous nuclear RNA, hnRNA**»).
- Il hnRNA contiene **introni ed esoni**.
- Gli introni sono rimossi mediante «**splicing**» del RNA, lasciando gli esoni, che contengono l'informazione, riuniti fra di loro.
- In alcuni casi, singoli nucleotidi possono venire aggiunti nel mezzo di una sequenza di mRNA mediante un processo detto di «**editing**» del RNA.

Introns



<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK21644/figure/A852/?report=objectonly>

Quadri complessi di splicing del mRNA

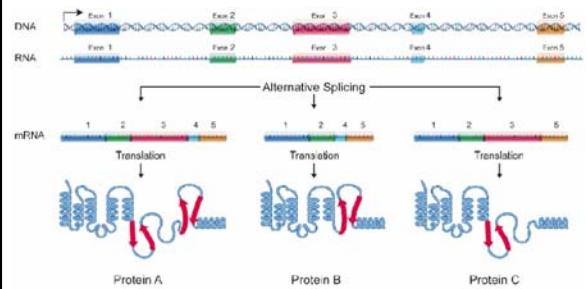


Quadri complessi dello "splicing" del mRNA negli eucarioti. Il pre-RNA trascritto del gene dell'alfa-tropomiosina viene "spliced" in modo alternativo in tipi cellulari diversi. Le caselle verde chiaro rappresentano gli introni, gli altri colori gli esoni. I segnali di poliadenilazione sono indicati da una A. Le linee tratteggiate nei mRNA maturi indicano regioni che sono state rimosse dallo splicing. TM: tropomyosin.

Griffiths et al., An Introduction to Genetic Analysis, W.H. Freeman & Co.

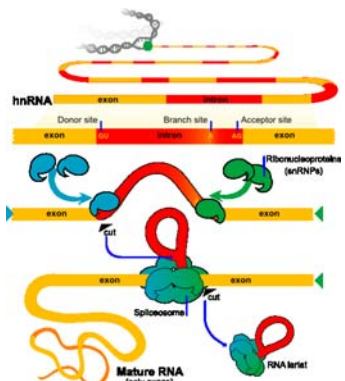
Rappresentazione schematica di "splicing" alternativo

(processo mediante il quale un dato gene viene "spliced" in più di uno tipo di molecole di mRNA)



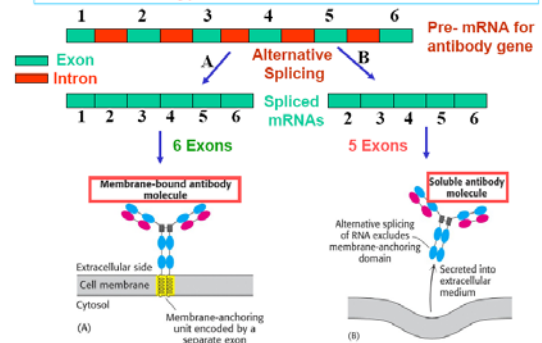
<http://www.nature.com/scitable/topicpage/ma-splicing-introns-exons-and-spliceosome-12375#>

«Splicing» del pre-mRNA e «spliceosome»



http://www.clipker.com/cliptarts/6/0/9/8/12641393651482667303RNA_splicing_diagram_en.svg.hi.png

Alternative Splicing can result in different proteins from same primary transcript (Ex: membrane-bound vs soluble antibody)



mRNA transcripts may be targeted to discrete cell locations

- produce discrete focal areas of high concentration for specific protein
 - e.g., *nanos*, *gurken*
- create gradients for expression of morphogens
 - e.g., *bicoid*
- establish cell lineages where some mRNAs are sequestered in a daughter cell
 - e.g., germ cell lineages, neuroblasts
- isolate specific mRNAs to an organelle or subcellular compartment
 - e.g., β -actin
- restrict translation to a specific location in a cell
 - e.g., *oskar*

How are mRNA transcripts targeted to specific subcellular domains?

- directed transport using cytoskeletal networks as "tracks" for translocation of mRNA cargo
- degradation and localized RNA stability
 - random cytoplasmic diffusion and trapping
 - vectorial transport from the nucleus to cytoplasmic target

Legend -
 NC nurse cells
 FC follicle cells
 A anterior
 P posterior

Saxton (2001) Cell 107:707.

rRNAs (RNA ribosomiali)

Ribosomal RNAs

- Function as components of **ribosomes**

Un ribosoma consiste di due sub-unità

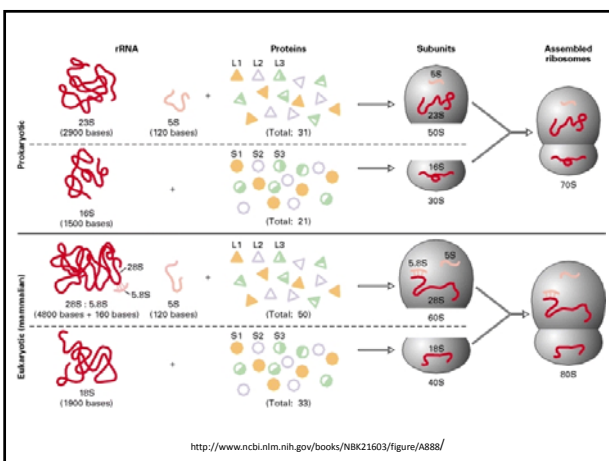
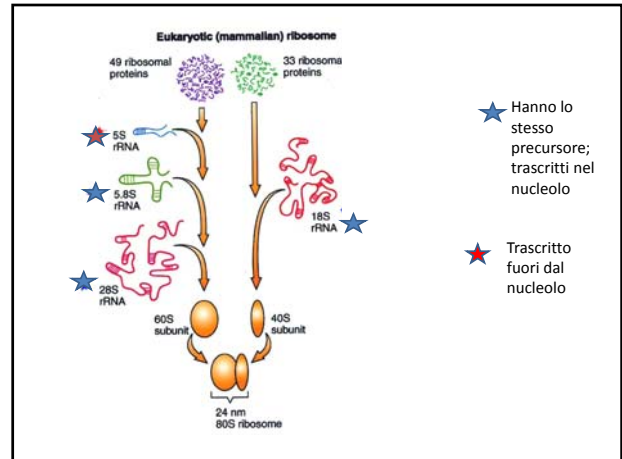
- I ribosomi sono strutture presenti sia in **forma libera nel citoplasma** che **ancorati al reticolo endoplasmatico ruvido**.
- Sono responsabili della sintesi proteica, leggendo le informazioni contenute in una catena di RNA messaggero (mRNA).

Ribosomes	Subunità	rRNAs	Proteine
Bacterial	50S	23S = 2904 bases 5S = 120 bases	31
	30S	16S = 1542 bases	21
	70S		
Mammalian	60S	28S = 4718 bases 5.8S = 160 bases 5S = 120 bases	49
	40S	18S = 1874 bases	33
	80S		

mass: 2.5×10^6 D
60% RNA

mass: 4.2×10^6 D
60% RNA

Lewis, Genes



Subunità dei ribosomi

- In tutte le cellule, ogni ribosoma consiste di due subunità, una grande e una piccola.
- Le due subunità contengono rRNAs di diversa lunghezza e un insieme diverso di proteine.
- Tutti i ribosomi contengono due molecole principali di rRNA (rosso scuro) – 23S e 16S rRNA nei batteri, 28S e 18S rRNA negli eucarioti – e uno o due piccoli rRNA (rosso chiaro).
- Le proteine sono designate L1, L2, ecc e S1, S2, ecc., a seconda che siano presenti nella subunità grande (“large”) o piccola (“small”).

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK21603/figure/A888/?report=objectonly>

PROCARIOTI

Ribosomal RNA

Structure of ribosomes

Prokaryotes: 50S + 30S

■ 50S

- 2 rRNA molecules (23S + 5S)
- 34 polypeptides

■ 30S

- one rRNA molecule (16S)
- 21 polypeptides

EUCARIOTI

Ribosomal RNA

Structure of ribosomes

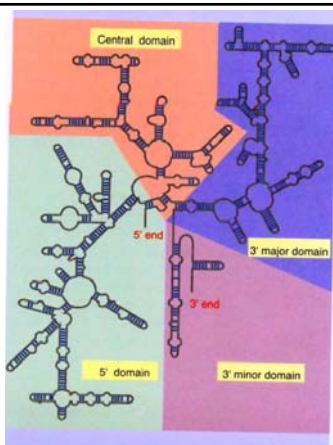
Eukaryotes: 60S + 40S

■ 60S

- 3 rRNA molecules (28S + 5.8S + 5S)
- 49 polypeptides

■ 40S

- one rRNA molecule (18S)
- 33 polypeptides

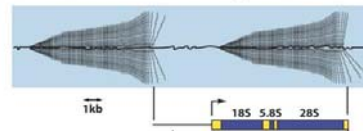


Struttura di un rRNA batterico

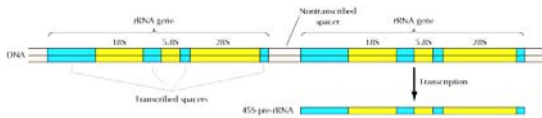
Lewis, Genes

Il gene del rRNA

- I geni appaiono in multiple copie, in clusters nelle regioni organizzatrici dei nucleoli ("nucleolar organizer regions"; NOR)
 - Sono richieste multiple copie del gene per fornire i 10 milioni di particelle ribosomiali di cui la cellula ha bisogno
 - Le cellule umane hanno 200 rRNA copie del gene per genoma, localizzate su cinque cromosomi differenti (la *E. coli* ha sette copie)
 - Ogni gene ha copie multiple del gene 45S, tutte separate da regioni non-trascritte denominate DNA spaziatore ("spacer DNA")
 - Le catene di rRNA in crescita somigliano ad un albero di Natale



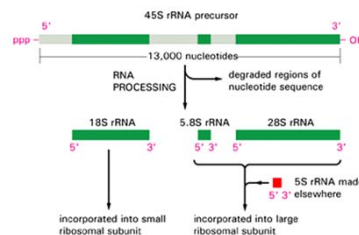
Geni dell' RNA ribosomale



- Ogni **gene dell' rRNA** è una **singola unità di trascrizione** contenente gli rRNAs 18S, 5.8S, e 28S e sequenze spaziatrici trascritte.
- I geni degli rRNA sono organizzati in serie in tandem, separate da DNA spaziatore non trascritto.

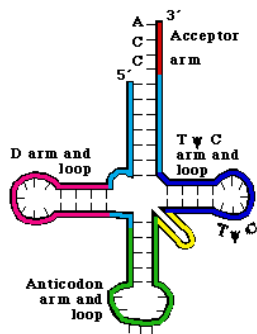
Cooper: *The Cell III. Cell Structure and Function*, 8. The Nucleus The Nucleolus

Processamento della molecola del precursore rRNA 45S in tre separati RNA ribosomali



Quasi la metà delle sequenze di nucleotidi dell'RNA trascritto primario sono degradate nel nucleo.

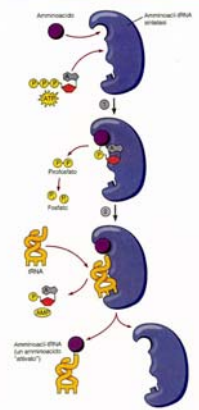
Molecular Biology of the Cell 3rd ed. Alberts, Bruce; Johnson, Alexander; Lewis, Julian; Raff, Martin; Roberts, Keith; Walter, Peter. New York



RNA TRANSFER (tRNA)

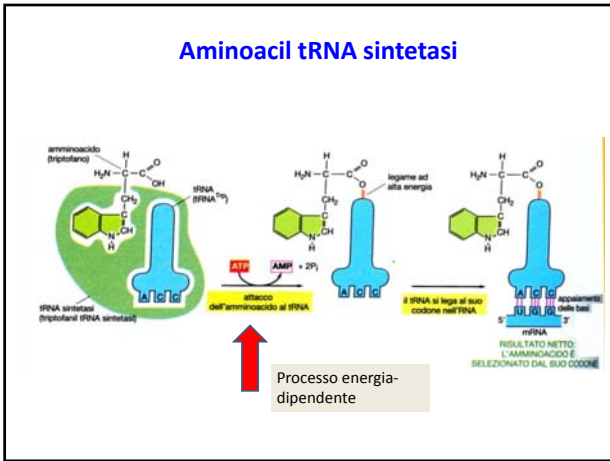
Aminoacil- tRNA- sintasi

- Enzima che catalizza l'esterificazione di un specifico aminoacido o del suo precursore ad uno dei suoi tRNA specifici per formare un **aminoacil-tRNA**.
- Questo processo viene talvolta chiamato "**caricamento**" del tRNA con l'aminoacido.
- Una volta che il tRNA è carico, un ribosoma può trasferire l'AA dal tRNA ad un polipeptide in crescita, secondo il codice genetico.



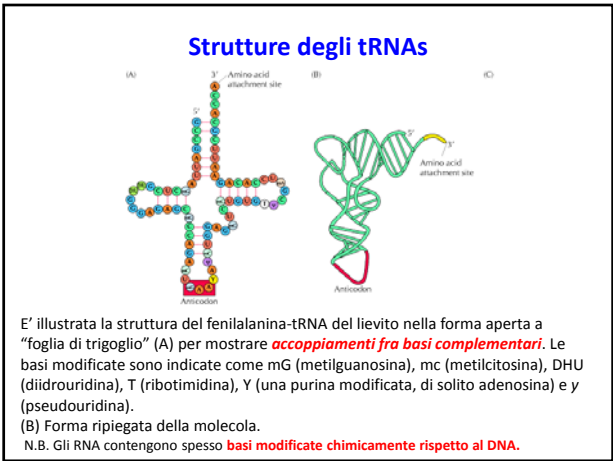
http://en.wikipedia.org/wiki/Aminoacyl-tRNA_synthetase

Aminoacil tRNA sintetasi



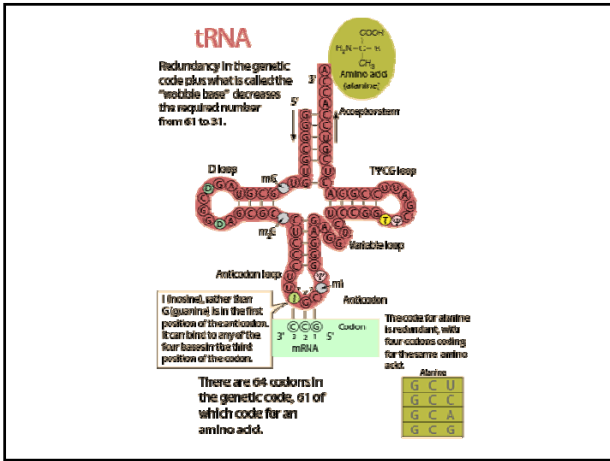
Processo energia-dipendente

Strutture degli tRNAs



E' illustrata la struttura del fenilalanina-tRNA del lievito nella forma aperta a "foglia di trigoglio" (A) per mostrare **accoppiamenti fra basi complementari**. Le basi modificate sono indicate come mG (metilguanosina), mc (metilcitosina), DHU (diidrossiuridina), T (ribotimidina), Y (una purina modificata, di solito adenosina) e y (pseudouridina).
 (B) Forma ripiegata della molecola.
 N.B. Gli RNA contengono spesso **basi modificate chimicamente rispetto al DNA**.

tRNA



STRUTTURA DEGLI RNA A FORMA TRIDIMENSIONALE COMPLESSA (es. rRNA, tRNA) (1)

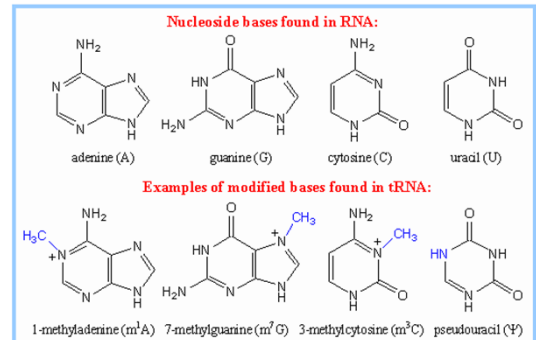
- Sia gli rRNA che i tRNA devono la loro attività alle loro **complesse strutture secondaria e terziaria**.
- Diversamente dal DNA che ha struttura a doppia elica relativamente definita indipendentemente dalla sua origine, gli RNA si ripiegano in **complesse forme tridimensionali**, notoriamente diverse da un tipo di RNA all'altro.
- Perciò, come le proteine, **gli RNA sono in grado di svolgere molte funzioni, perchè possono assumere un gran varietà di forme**.
- Come per le proteine, il ripiegamento degli RNA segue certe regole.
- Durante il ripiegamento delle catene proteiche che lavorano in ambiente acquoso i residui idrofobici vengono portati all'interno.
- Nell'RNA il ripiegamento dipende dalla formazione di regioni che hanno coppie di basi complementari**.
- Le regioni di basi appaiate formano tipicamente degli "steli" a doppio filamento (e a doppia elica), connessi ad "anse" a filamento singolo.

Seminario

Struttura dei tRNA

Struttura primaria e secondaria (1)

- Tutti i tRNA hanno una sequenza simile di 73 a 93 nucleotidi.
- L'estremità 3' *finisce sempre con la sequenza CCA*, in cui il gruppo idrossilico 3' del ribosio della A terminale è il punto di legame covalente per l'aminoacido.
- Essi contengono un certo numero (7-15%) di basi uniche o modificate. Queste vengono modificate post-trascrizionalmente dopo la sintesi.

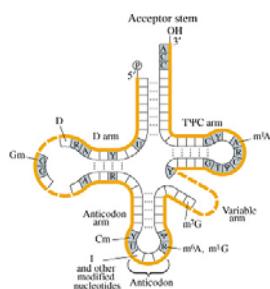


Seminario

Struttura dei tRNA

Struttura primaria e secondaria (2)

- Il tRNA ha una *struttura secondaria* a forma di *trifoglio* a causa di due gambi ("stems") in cui vi è appaiamento intramolecolare tra basi.
- Il trifoglio contiene tre **loops** senza appaiamento di basi: il loop D, l'anticodone e il loop TpsiC.



Seminario

STRUTTURA DEGLI RNA

A FORMA TRIDIMENSIONALE COMPLESSA

(es. rRNA, tRNA) (2)

- A differenza del DNA, costituito unicamente dalle coppie di basi A-T e G-C, **il RNA contiene spesso coppie di basi non convenzionali e basi azotate modificate**.
 - Queste regioni peculiari spesso fungono da siti di riconoscimento per proteine ed altri RNA
 - Promuovono il ripiegamento del RNA
 - Aiutano a stabilizzare la struttura della molecola.
- L'appaiamento delle basi fra le diverse molecole di RNA svolge un ruolo cruciale nella gran parte delle attività in cui sono coinvolti gli RNA.

Seminario

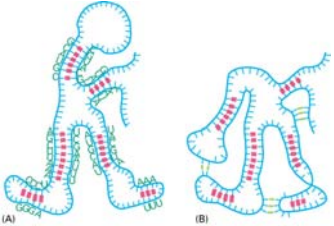
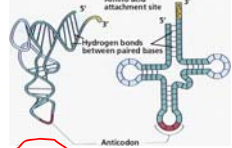


Figure 6-6 part 1 of 2, Molecular Biology of the Cell, 4th Edition.

L'RNA si può ripiegare in strutture specifiche. L'RNA è in gran parte a singolo filamento, ma spesso contiene brevi tratti di nucleotidi che possono formare coppie di basi convenzionali con sequenze complementari presenti altrove sulla stessa molecola. Queste interazioni, insieme ad ulteriori interazioni di appaiamento "non convenzionale" di basi, permettono ad una molecola di RNA di ripiegarsi in una struttura tridimensionale che è determinata dalla sua sequenza di nucleotidi. (A) Diagramma di una struttura ripiegata di RNA che mostra soltanto interazioni di appaiamento convenzionale; (B) struttura con interazioni di accoppiamento convenzionale (rosso) e non convenzionale (verde); (C) struttura di un RNA reale, una porzione di un introne di gruppo 1. Ciascuna interazione di accoppiamento convenzionale è indicata da un "piolo" nella doppia elica. Le basi in altre configurazioni sono indicate da pioli spezzati.

Struttura dei tRNA
Struttura primaria e secondaria (3)



In particolare, l'adenosina (A) nella prima o 5' posizione dell'anticodone (corrispondente alla terza o posizione 3' del codone) è sempre modificata in inosina (I) che manca del gruppo aminico (-NH₂) nell'anello purinico.

L'inosina può appaiarsi con A, U o C e perciò spiega molta della degenerazione del Codice Genetico (Teoria di «Wobble», tentennamento).

Seminario

Seminario

Struttura dei tRNA
Struttura Terziaria del tRNA (1)

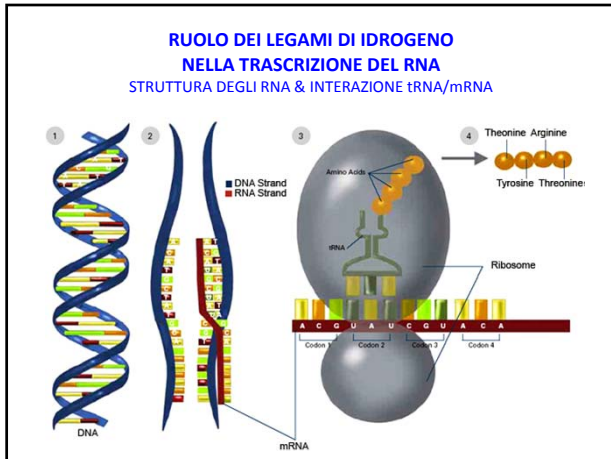
- La struttura terziaria del tRNA è meglio descritta come una forma compatta a "L".
- L'anticodone è un loop a singola elica all'estremità della Figura, che ulteriormente si appaierà con la tripletta codone.
- L'aminoacido è legato alla Adenina terminale sulla parte superiore destra.
- I siti attivi (anticodone e portatore dell'amminoacido) sono separati il più possibile.

Seminario

Struttura dei tRNA
Struttura Terziaria del tRNA (2)

- Come succede con le proteine, la struttura terziaria è dettata dalla sequenza primaria.
- La struttura terziaria è stabilizzata da appaiamento tra basi e accatastamento di basi.
- Due aree (braccio anticodone e braccio accettore) formano una doppia elica.





Seminario

Seminario
**FUNZIONI DEGLI RNA NON
CODIFICANTI**

<http://www.nature.com/scitable/topicpage/ma-functions-352>

Seminario

RNA non codificanti (1)

- ✚ Molecole di RNA che non prendono la forma del mRNA e che non codificano per proteine.
- ✚ Il loro coinvolgimento in molti processi regolatori, la loro abbondanza e la diversità delle funzioni che svolgono ha portato all'ipotesi che un **mondo a RNA** possa avere preceduto l'evoluzione del DNA e delle proteine (Gilbert, 1986)

<http://www.nature.com/scitable/topicpage/ma-functions-352>

Seminario

RNA non codificanti (2)

- ✚ **tRNA** e **rRNA** ben noti come essenziali per la traduzione del mRNA in proteine.
- ✚ Ci sono inoltre un gran numero di altri RNA non codificanti nelle cellule eucariotiche che collaborano a molte funzioni essenziali: «**small regulatory RNAs, sRNAs**»
- ✚ Svolgono il loro ruolo mediante:
 - appaiamento di basi complementari
 - formazione di complessi con proteine
 - attività catalitica

<http://www.nature.com/scitable/topicpage/ma-functions-352>

Seminario

«Small nuclear RNAs, snRNAs»

- Giocano un ruolo chiave nella **regolazione genica** mediante lo *splicing del mRNA*.
- Si trovano nel **nucleo** e sono legati strettamente a proteine formando complessi detti «**small nuclear ribonucleoproteins**» (**snRNPs**).
- I più abbondanti sono le particelle U1, U2, U5 e U4/U6, coinvolte nello splicing del pre-mRNA per dare il mRNA maturo.

<http://www.nature.com/scitable/topicpage/ma-functions-352>

Seminario

Micro RNAs (miRNAs)

- Piccoli RNA regolatori lunghi circa 22-26 nucleotidi. Dimostrati prima nel nematode *C. elegans* e successivamente in molte altre specie, incluso topo e umani.
- Ad oggi identificate diverse centinaia ma molti altri potrebbero esistere. (He & Hannon, 2004).
- Inibiscono l'espressione genica mediante repressione della traduzione.**
 - Es. Il miRNA codificato dai geni della *C. elegans*, *lin-4* and *let-7*, si lega alla regione non tradotta 3' del loro mRNA bersaglio, impedendo che vengano prodotte proteine funzionali durante alcuni stadi dello sviluppo larvale.
 - La maggior parte degli miRNAs studiati ad oggi sembrano controllare l'espressione genica legandosi a mRNA bersaglio mediante appaiamento imperfetto di basi e ulteriore inibizione della traduzione, nonostante siano state notate alcune eccezioni.
- Giocano ruoli significativi anche nel cancro e in altre patologie:
 - Nei linfociti B nel linfoma di Burkitt la specie miR-155 è particolarmente abbondante e la sua sequenza correla inoltre con una nota traslocazione cromosomica (scambio di DNA fra cromosomi).

<http://www.nature.com/scitable/topicpage/ma-functions-352>

Seminario

Small interfering RNAs

- Sono un'ulteriore classe di piccoli RNAs degli eucarioti.
- Nonostante siano lunghi soltanto da 21-25 coppie di basi, anche essi lavorano per **inibire l'espressione genica**:
 - Un filamento di una molecola di siRNA a doppio filamento può essere incorporata in un complesso chiamati RISC.
 - Questo complesso può inibire la trascrizione di una molecola di mRNA che abbia una sequenza complementare alla componente in RNA del complesso.
- Sono stati inizialmente definiti dalla loro partecipazione al processo di «**RNA interference**» (**RNAi**).
- Probabilmente sono evoluti come processo di difesa contro virus a RNA a doppio filamento.
- Derivano da trascritti più lunghi in un processo simile a quello che porta alla formazione degli miRNAs, e il recessamento di entrambi i tipi di RNA coinvolge lo stesso enzima, Dicer.
- Le due classi sembrano essere distinguibili dal loro meccanismo di repressione.

<http://www.nature.com/scitable/topicpage/ma-functions-352>

