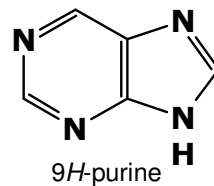
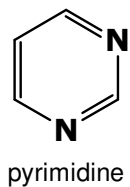


Lezione del 5 Maggio 2009

Nucleotidi ed acidi nucleici

Pyrimidine e Purine

Al fine di comprendere la struttura e le proprietà del DNA e del RNA, abbiamo bisogno di guardare in dettaglio ai loro componenti strutturali. Cominciamo da alcuni composti eterociclici aromatici, chiamati pirimidine e purine. Il nome di pirimidine e purine è attribuito alle molecole derivate da due archetipi di composti eterociclici aromatici a 6 termini, particolarmente ricchi di atomi di azoto, la pirimidina e la purina.



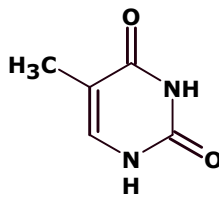
Le pirimidine che si trovano nel DNA sono citosina e timina: mentre nell'RNA ritroviamo citosina e uracile:

4-aminopyrimidin-
2 (1H)-one



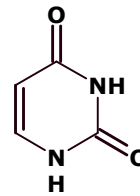
Citosina

5-methylpyrimidine-
2,4 (1H,3H)-dione

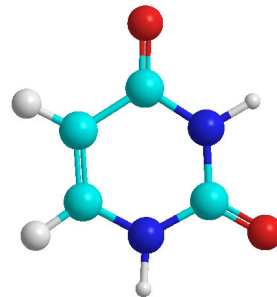
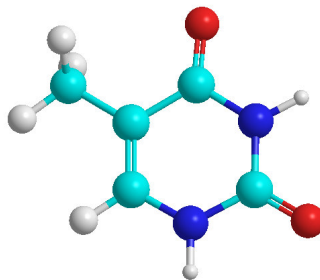
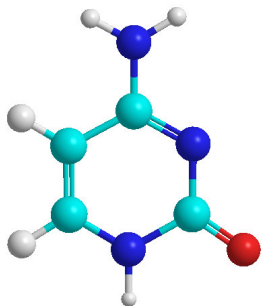


Timina

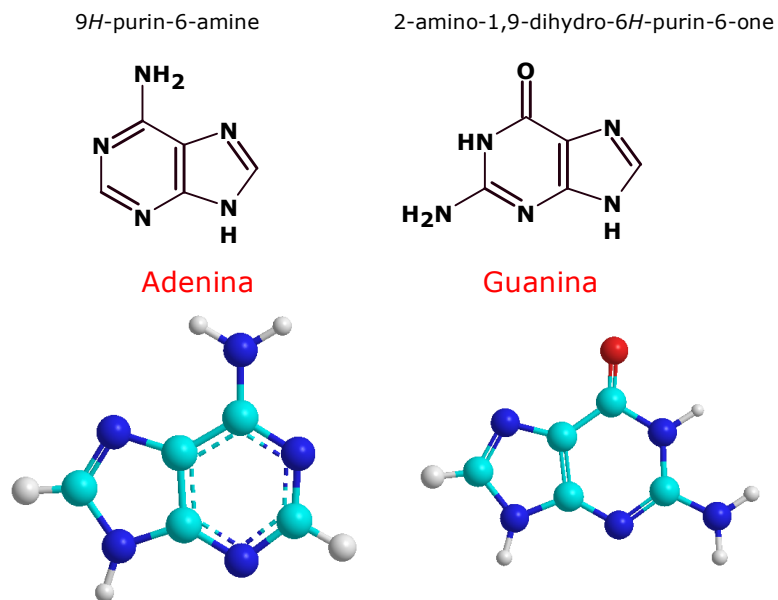
pyrimidine-2,4
(1H,3H)-dione



Uracile

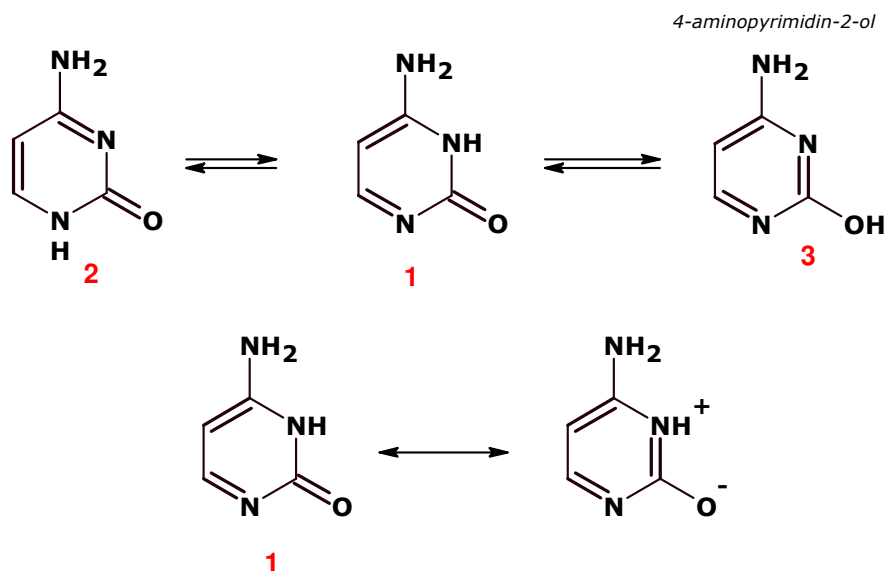


L'adenina e la guanina sono le purine contenute sia nel DNA sia nel RNA:



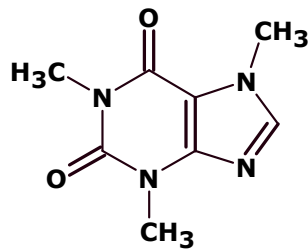
Una prima sommaria ispezione delle strutture di queste molecole potrebbe far concludere che le pirimidine e le purine che contengono un gruppo carbonilico (citosina, timina, uracile e guanina) non siano sostanze aromatiche, perché non raggiungendo i $4n+2$ elettroni π nel ciclo, non soddisfano la regola di Huckel. In realtà, se analizziamo in profondità una di queste strutture, per esempio quella della citosina, possiamo osservare che la sua struttura può essere meglio descrivibile come una specie presente in *equilibri cheto-enolici* (*tautomeria*), originati da rapidi scambi protonici tra gli atomi di azoto (**1** e **2**) e tra l'azoto e l'ossigeno (**3**). L'ultimo *tautomero* (**3**) presenta un gruppo ossidrilico legato direttamente all'anello aromatico, proprio come il fenolo. Per analogia con la struttura dei fenoli quindi, potremmo attenderci che l'isomero (*tautomero*) **3**, con il gruppo OH sull'anello aromatico, sia il più stabile. Questo in realtà non è vero, perché gli equilibri tautomerici favoriscono la forma carbonilica perché in questo caso è più stabile della forma enolica.

La forma *enolica* (un doppio legame ed un ossidrile presenti sullo stesso carbonio ibridato sp^2) infatti presenta un ossidrile, con caratteristiche debolmente acide, insieme ad atomi di azoto con caratteristiche debolmente basiche. La contemporanea presenza di queste due funzionalità non favorisce la stabilità della struttura, che è dunque sfavorita da semplici considerazioni acido-base. Inoltre va osservato che le forme carboniliche conservano una struttura aromatica, a causa della risonanza del legame ammidico (lezione del 24/03). Questa prevalenza della forma chetonica e della loro aromaticità ha, come vedremo, conseguenze enormi sulla stabilità e la capacità di replicazione degli acidi nucleici. Infatti un gruppo carbonilico si comporta sempre come accettore di legami ad idrogeno, mentre un gruppo ossidrilico è notoriamente un donatore nei legami ad idrogeno.



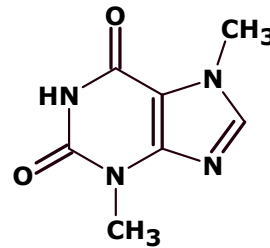
Le purine e le pirimidine sono molecole molto diffuse in natura, e tra loro vanno comprese, ad esempio, la caffeina e la teobromina, (ritrovate nel caffè e nel tè rispettivamente). Sono chiaramente visibili le forti analogie strutturali con le basi puriniche trovate negli acidi nucleici:

1,3,7-trimethyl-3,7-dihydro-
1*H*-purine-2,6-dione



Caffeina

3,7-dimethyl-3,7-dihydro-
1*H*-purine-2,6-dione



Teobromina

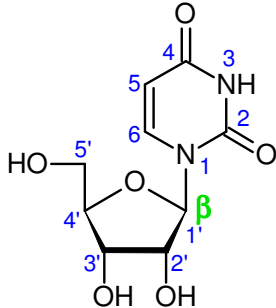
Nucleosidi

Gli *N*-glicosidi si formano quando un monosaccaride reagisce con una ammina, in condizione debolmente acide. Analogamente agli *O*-glicosidi, anche in questo caso si possono ottenere gli anomeri α e β . In particolare gli *N*-glicosidi, ottenuti con le ammine eterocicliche aromatiche di tipo puriniche e pirimidiniche, da due pentosi - il D-ribosio e il 2-deossi-D-ribosio - sono particolarmente importanti, essendo le unità costitutive rispettivamente dell'RNA e del DNA. Questi particolari *N*-glicosidi sono definiti nucleosidi, ma questa definizione va estesa in generale a tutti gli *O,N*-acetali contenenti purine o pirimidine normali o presentanti modificazioni strutturali, indipendentemente dalla natura del monosaccaride. Le parti puriniche e pirimidiniche di un nucleoside sono riferite come basi puriniche o pirimidiniche.

Uridina and Adenosina

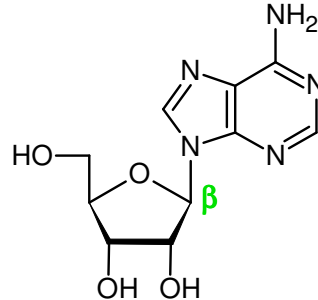
Ad esempio l'uridina è un nucleoside formato da uracile e D-ribofuranosio, mentre l'adenosina è un nucleoside formato da adenina e D-ribofuranosio. Da notare che è sempre un atomo di azoto presente nel ciclo dell'eterociclo che è legato al carbonio anomero. Tutti i nucleosidi trovati negli acidi nucleici hanno inoltre una stereochimica β , con le basi puriniche e pirimidiniche che sono in posizione *cis* rispetto al gruppo $-\text{CH}_2\text{-OH}$ dell'anello furanosidico.

Ai nucleosidi viene assegnata una numerazione ad entrambi gli anelli e si aggiunge l'indice (') al monosaccaride al fine di descrivere separatamente le funzionalità presenti.



Uridina

Un nucleoside
pirimidinico



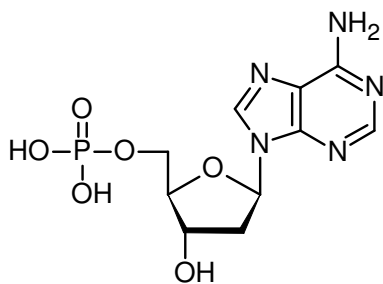
Adenosina

Un nucleoside
purinico

Nucleotidi

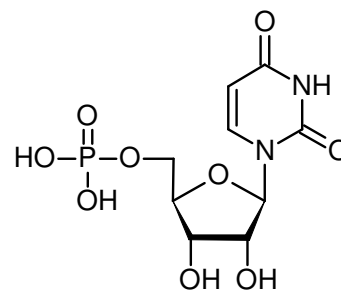
I Nucleotidi sono esteri fosforici dei nucleosidi.

Ad esempio la deossi-adenosina 5'-monofosfato (dAMP) è un deossi-ribonucleotide che presenta un legame estereo tra l'ossidrilico in posizione 5' del 2-deossi-D-ribosio e l'acido fosforico. L'uridina 5'-monofosfato è invece un ribonucleotide (UMP).



deossi-Adenosina
5'-monofosfato
dAMP

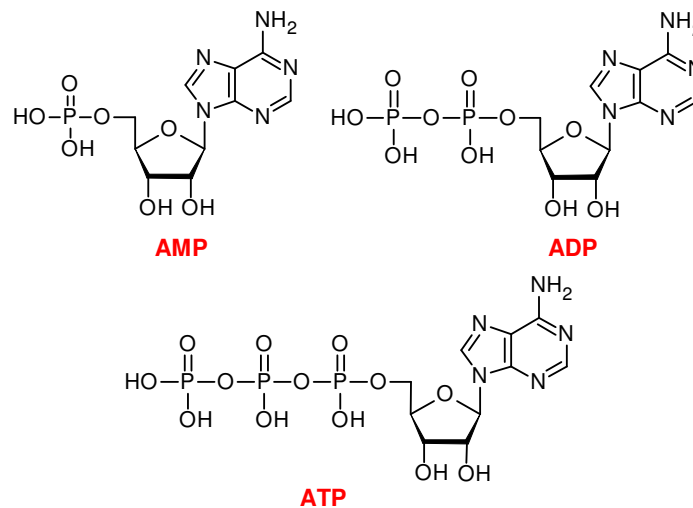
un deossi-ribonucleotide



Uridina
5'-monofosfato
UMP

un ribonucleotide

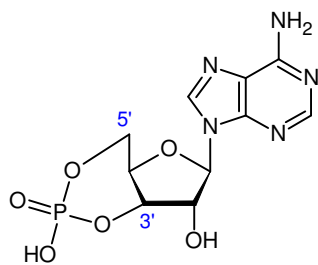
Esistono quindi i 4 deossi-ribonucleotidi della adenina (A), guanina (G), timina (T), e citosina (C) e i 4 ribonucleotidi della adenina (A), guanina (G), uracile (U), e citosina (C). Altri importanti 5'-ribonucleotidi dell'adenosina (non contenuti negli acidi nucleici, ma fondamentali per la loro sintesi) sono l'adenosina 5'-difosfato (ADP) e l'adenosina 5'-trifosfato (ATP). La molecola di ATP è la principale fonte di energia per ogni fonte di vita sulla terra. Numerose e fondamentali trasformazioni biologiche coinvolgono l'ATP, come ad esempio la fosforilazione, in cui l'ATP trasferisce uno dei suoi gruppi fosfato al gruppo OH di un'altra molecola, in processi catalizzati da enzimi chiamati *chinasi*.



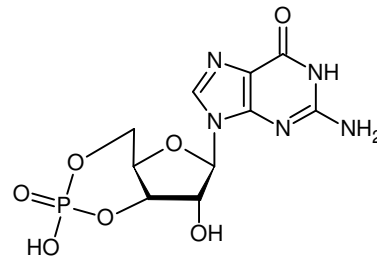
Le conversioni di AMP in ADP e poi in ATP sono processi endotermici e l'energia di ogni processo viene ottenuta dal metabolismo dei carboidrati (glicolisi).

I processi inversi, cioè di idrolisi dei tri-fosfati e di-fosfati a monofosfati, sono esotermici e costituiscono, come detto, la fonte primaria dell'energia biologica.

Esiste anche un'altra molecola di fondamentale importanza associata all'AMP che è l'adenosina 3'-5' monofosfato ciclico (cAMP). Essa, insieme alla guanina 3'-5' monofosfato (cGMP), costituisce un importante regolatore di molti processi biologici:



Adenosina
3',5'-monofosfato
cAMP

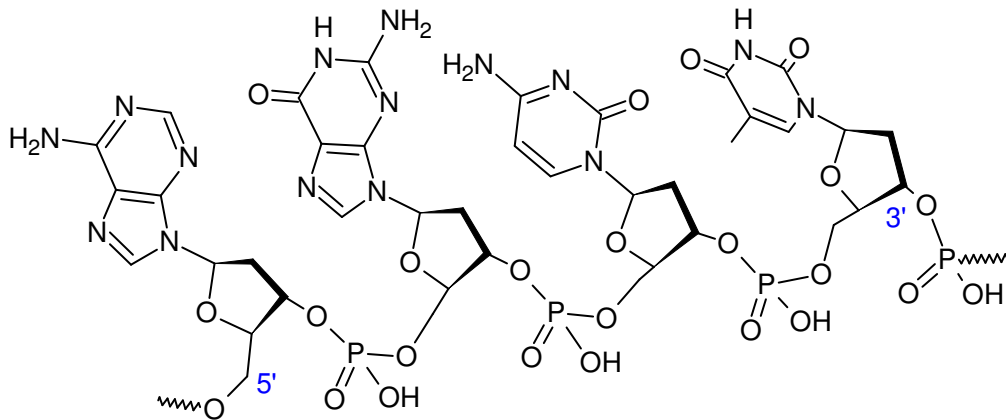


Guanosina
3',5'-monofosfato
cGMP

Acidi Nucleici

Gli acidi nucleici sono biopolimeri i cui monomeri sono i nucleotidi (*polinucleotidi*). In essi, un gruppo fosfato fa da ponte legando l'ossigeno in 5' di un nucleotide all'ossigeno in 3' di un altro nucleotide.

Di seguito un frammento di DNA, -----AGCT-----



Struttura e replicazione del DNA: La doppia elica

Composizione del DNA

Molti studi condotti sui DNA provenienti da varie fonti insieme all'analisi della distribuzione di purine e pirimidine in essi contenuti hanno consentito di chiarire la struttura e le capacità strabilianti replicative degli acidi nucleici.

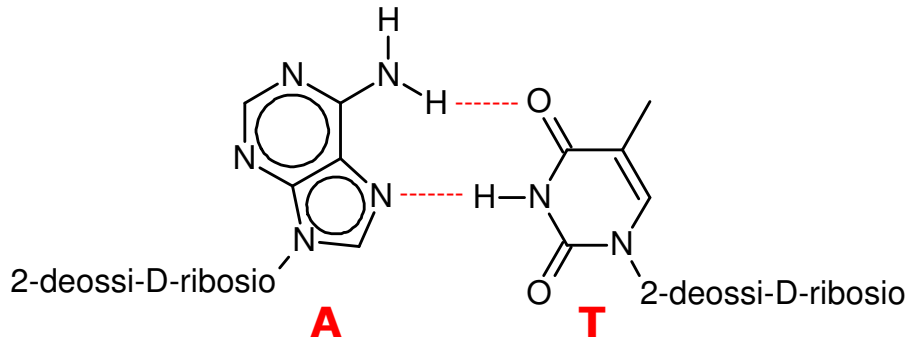
La distribuzione delle basi adenina (A), guanina (G), timina (T), e citosina (C) varia al variare delle fonti. Ma le quantità totali di purine (A + G) e di pirimidine (T + C) risultano essere sempre uguali. Inoltre si trova sempre che la %A è sempre uguale alla %T, e la %G è sempre uguale alla %C.

Ad esempio si trova che la composizione del DNA umano è la seguente:

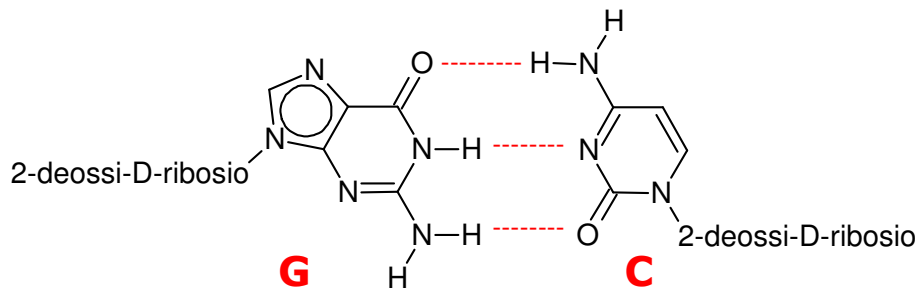
Adenina (A) = 30,3%	Timina (T) = 30.3%
Guanina (G) = 19.5%	Citosina (C) = 19.9%
Totale purine = 49.8%	Totale pirimidine = 50.2%

Accoppiamento delle Basi

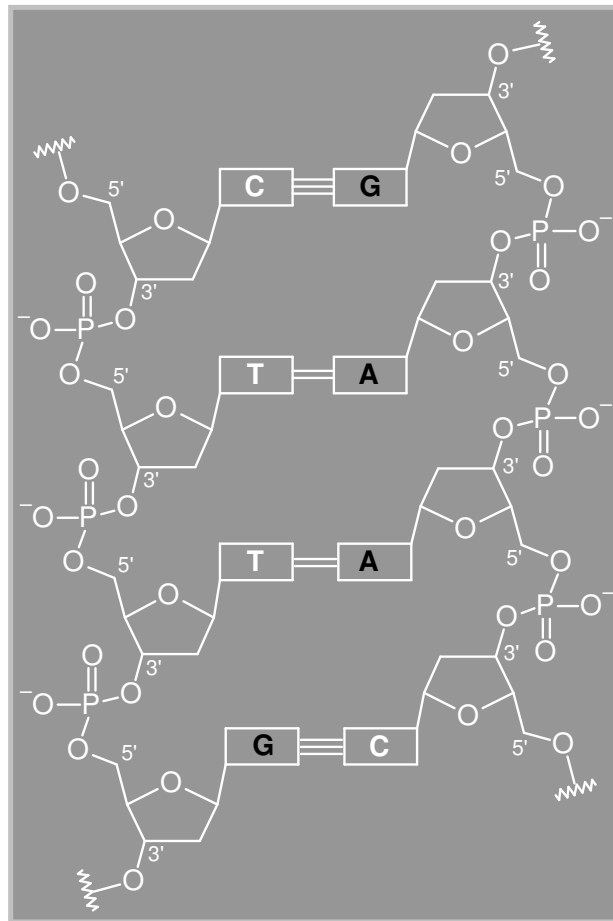
Watson e Crick hanno proposto che l'adenosina (A) e la timina (T) venivano ritrovate in uguale quantità a causa della funzionalità reciproca nella formazione di legami ad idrogeno.



Analogamente, la guanina G e la citosina C sono presenti in eguale quantità a causa della loro complementarietà nella formazione di legami ad idrogeno.



Watson e Crick hanno quindi proposto la struttura a doppio filamento del DNA, nella quale basi puriniche o pirimidiniche di una catena sono accoppiate con legami ad idrogeno in maniera complementare alle basi presenti nell'altra catena. Quindi i due filamenti antiparalleli di DNA sono accoppiati da legami ad idrogeno tra le basi puriniche e pirimidiniche. Come si può osservare le basi aromatiche, planari, sono confinate perfettamente all'interno della struttura a doppia elica, formando dei legami ad idrogeno che stabilizzano questa architettura molecolare, mentre lo scheletro di carboidrati e i gruppi fosfato sono orientati verso l'esterno della struttura.



Replicazione del DNA

Con lo "svolgimento" della doppia elica, ogni filamento agisce da stampo per la costruzione di un filamento complementare. Da una molecola di DNA se ne ottengono quindi due. La replicazione è catalizzata dall'enzima *DNA polimerasi*. Il DNA non ha solo la capacità di auto replicazione ma dirige anche la biosintesi proteica attraverso la formazione di un altro acido nucleico, l'RNA. E' proprio questo il dogma centrale di tutta la biologia molecolare: *Il DNA fa l'RNA e l'RNA fa le proteine*. La sintesi proteica è realizzata in due stadi principali: la trascrizione e la traduzione. In realtà ci sono tre tipi di RNA coinvolti in questa sintesi: l'RNA messaggero (mRNA), l'RNA transfer (tRNA) e l'RNA ribosomiale (rRNA). Nella trascrizione viene formato un filamento di mRNA usando come stampo uno dei due filamenti del DNA. La sequenza nucleotidica del mRNA è complementare alla sequenza nucleotidica del DNA.

La trascrizione inizia alla posizione finale 5' del DNA ed è catalizzata dall'enzima *RNA polimerasi*. In questo stadio l'uracile è incorporato al posto della timina. La sequenza nucleotidica del mRNA prodotto può codificare per i differenti amminoacidi trovati nelle proteine. L'alfabeto che definisce il linguaggio del codice genetico viene quindi tradotto nell'alfabeto che definisce il linguaggio delle proteine. Sono necessari 3 nucleotidi per codificare ogni singolo amminoacido. Le triplette di nucleotidi vengono così definiti codoni. Le possibili combinazioni delle 4 basi A, U, G, e C che formano le triplette sono complessivamente 64, e così si riscontra una ridondanza nel codice genetico. Molti amminoacidi sono codificati da più di una tripletta di basi. Ci sono poi 20 differenti tRNA, ognuno specifico per ogni amminoacido.

Un particolare amminoacido è attaccato al proprio tRNA da un legame estereo formato dal gruppo carbossilico dell'amminoacido e dal gruppo ossidrilico in posizione 3' tRNA.