



Первый Санкт-Петербургский государственный
медицинский университет имени академика И.
П. Павлова

Кафедра биологической химии

ОБМЕН НУКЛЕОПРОТЕИНОВ

Лечебный факультет

Лектор: доц. Соловцова Ирина Леонидовна



Лекция №1

СТРОЕНИЕ, СВОЙСТВА,
БИОЛОГИЧЕСКАЯ РОЛЬ
НУКЛЕОТИДОВ И НУКЛЕИНОВЫХ
КИСЛОТ. КАТАБОЛИЗМ
НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ.
ПРИМЕНЕНИЕ ПОЛИМЕРАЗНОЙ
ЦЕПНОЙ РЕАКЦИИ В МЕДИЦИНЕ.

Нуклеиновые кислоты: определение

- Нуклеиновые кислоты названы так, поскольку впервые были открыты в ядрах клеток.
- **Нуклеиновые кислоты - линейные гетеробиополимеры, состоящие из моноклеотидов, соединенных 3'-5'-фосфодиэфирными связями**

Нуклеиновая кислота (НК)

```
graph TD; A[Нуклеиновая кислота (НК)] --> B[Дезоксирибонуклеиновая (ДНК)  
находится в ядре клетки и  
МИТОХОНДРИЯХ]; A --> C[Рибонуклеиновая (РНК)  
находится в ядре и  
ЦИТОПЛАЗМЕ клетки.];
```

Дезоксирибонуклеиновая (ДНК)
находится в ядре клетки и
МИТОХОНДРИЯХ

Рибонуклеиновая (РНК)
находится в ядре и
ЦИТОПЛАЗМЕ клетки.

Азотистое основание – пентоза – $\Phi \sim \Phi \sim \Phi$

Нуклеозид

НМФ

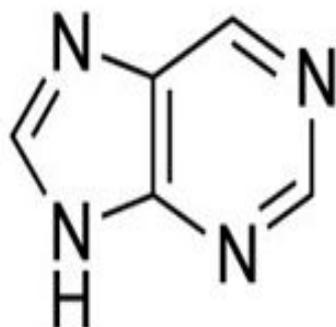
НДФ

НТФ

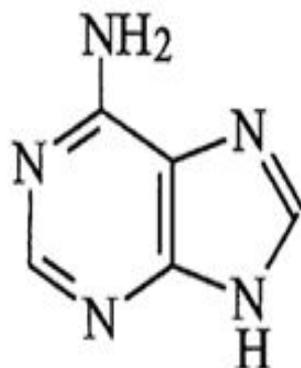
моноклеотиды

Азотистые основания

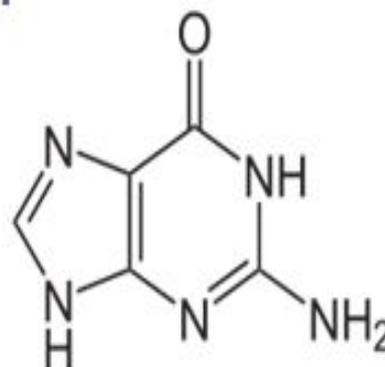
ПУРИНЫ



ПУРИН

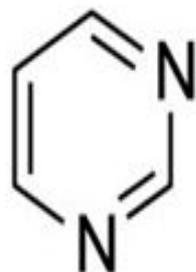


аденин

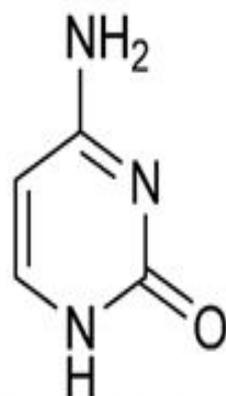


гуанин

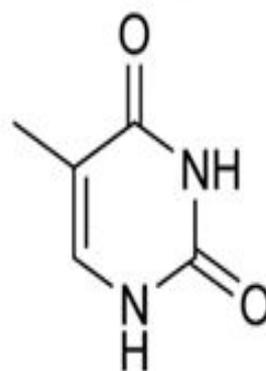
ПИРИМИДИНЫ



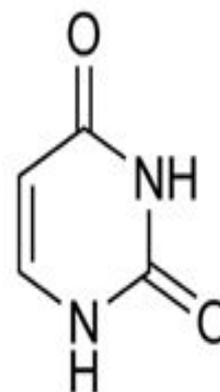
ПИРИМИДИН



цитозин

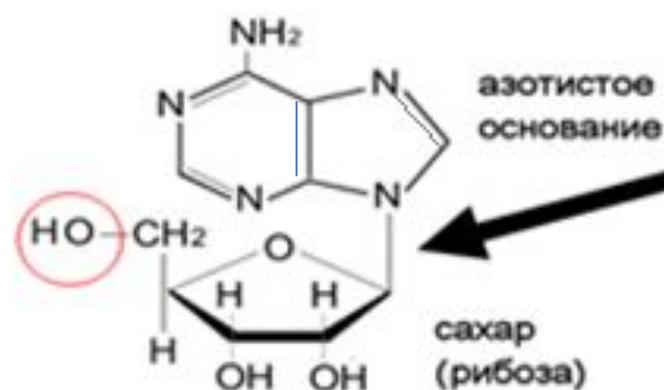


тимин



урацил

Нуклеозиды

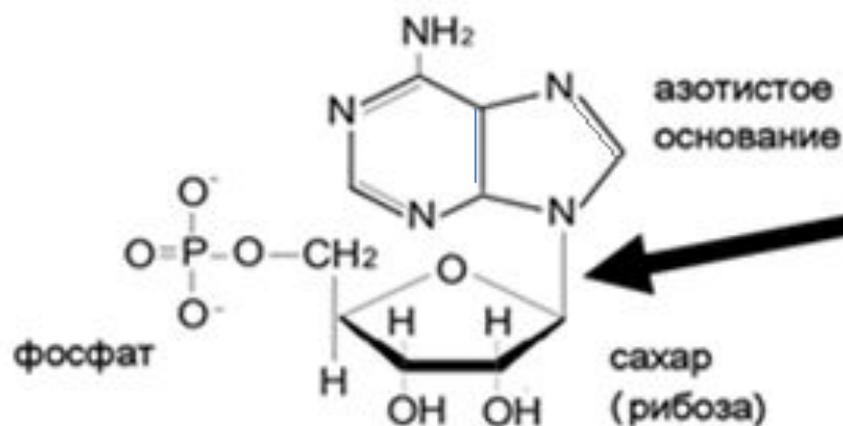


рибонуклеозид

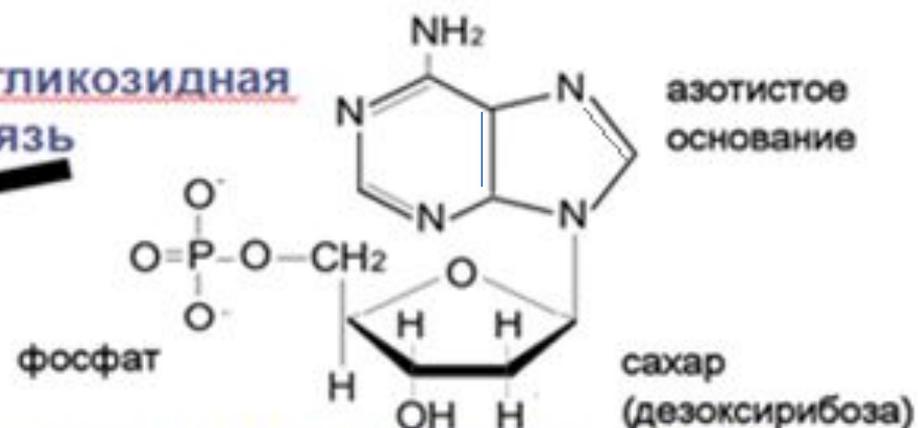


дезоксирибонуклеозид

Нуклеотиды



рибонуклеотид



дезоксирибонуклеотид

РНК

Азотистое
основание
(А, Г, Ц, У)

Углевод –
рибоза

Остаток
ФК

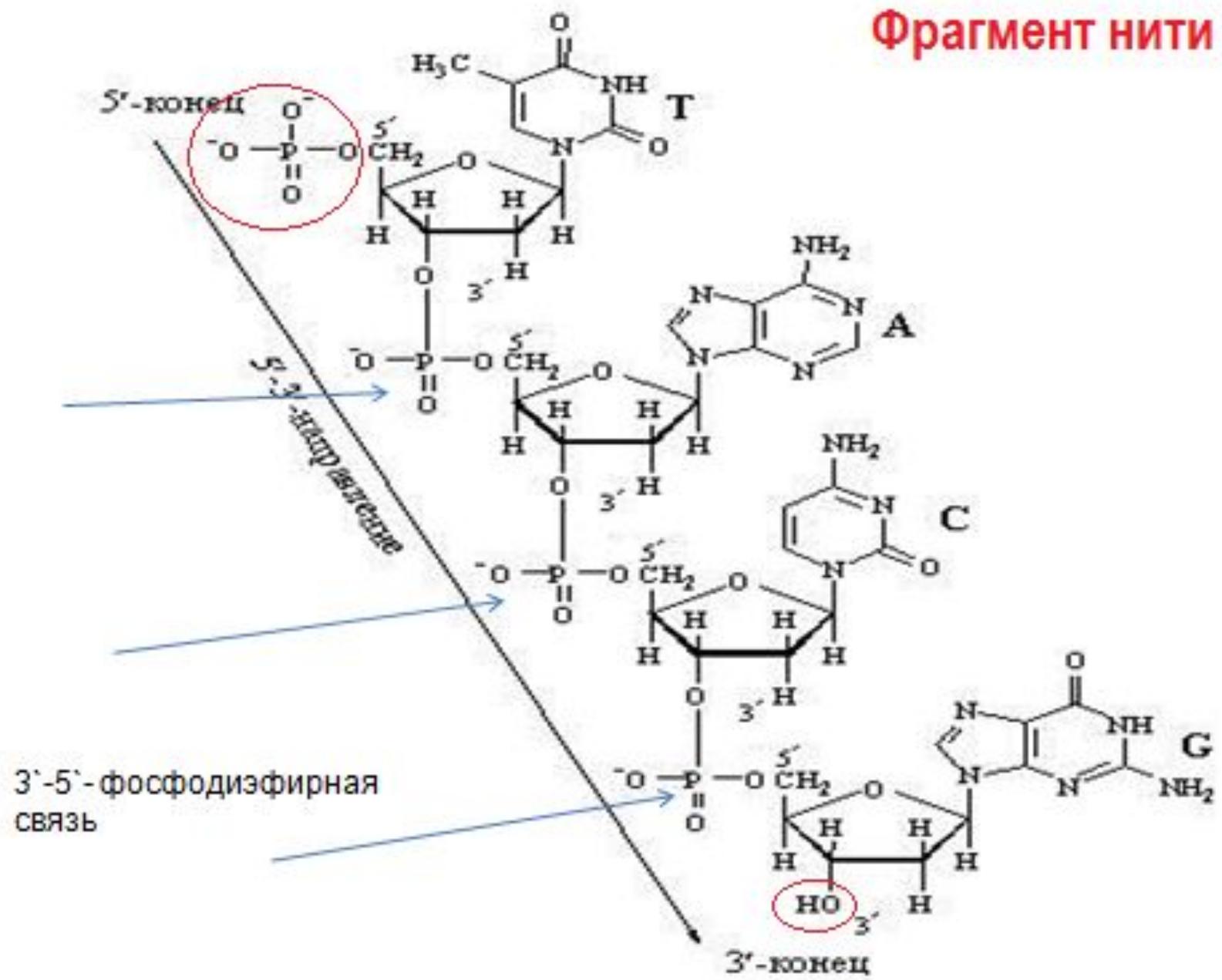
ДНК

Азотистое
Основание
(А, Г, Ц, Т)

Углевод –
дезоксирибоза

Остаток
ФК

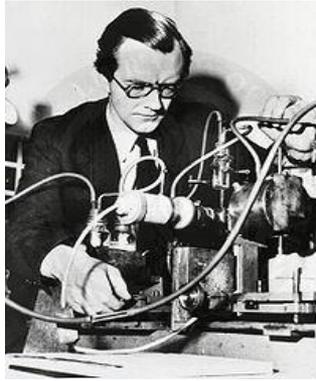
Фрагмент нити ДНК



Модель Уотсона и Крика

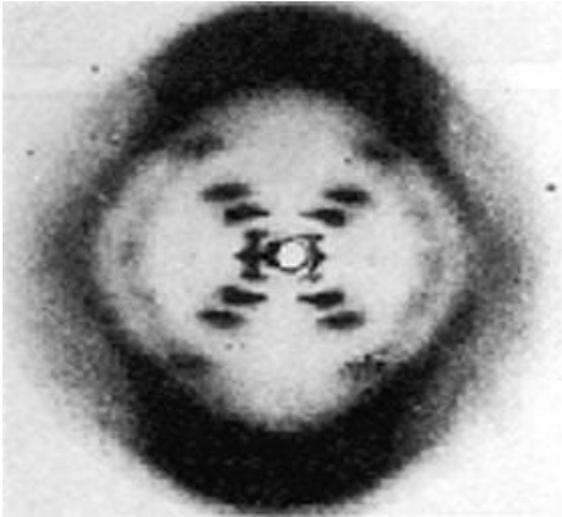


Розалинд Франклин
(1920-1958)

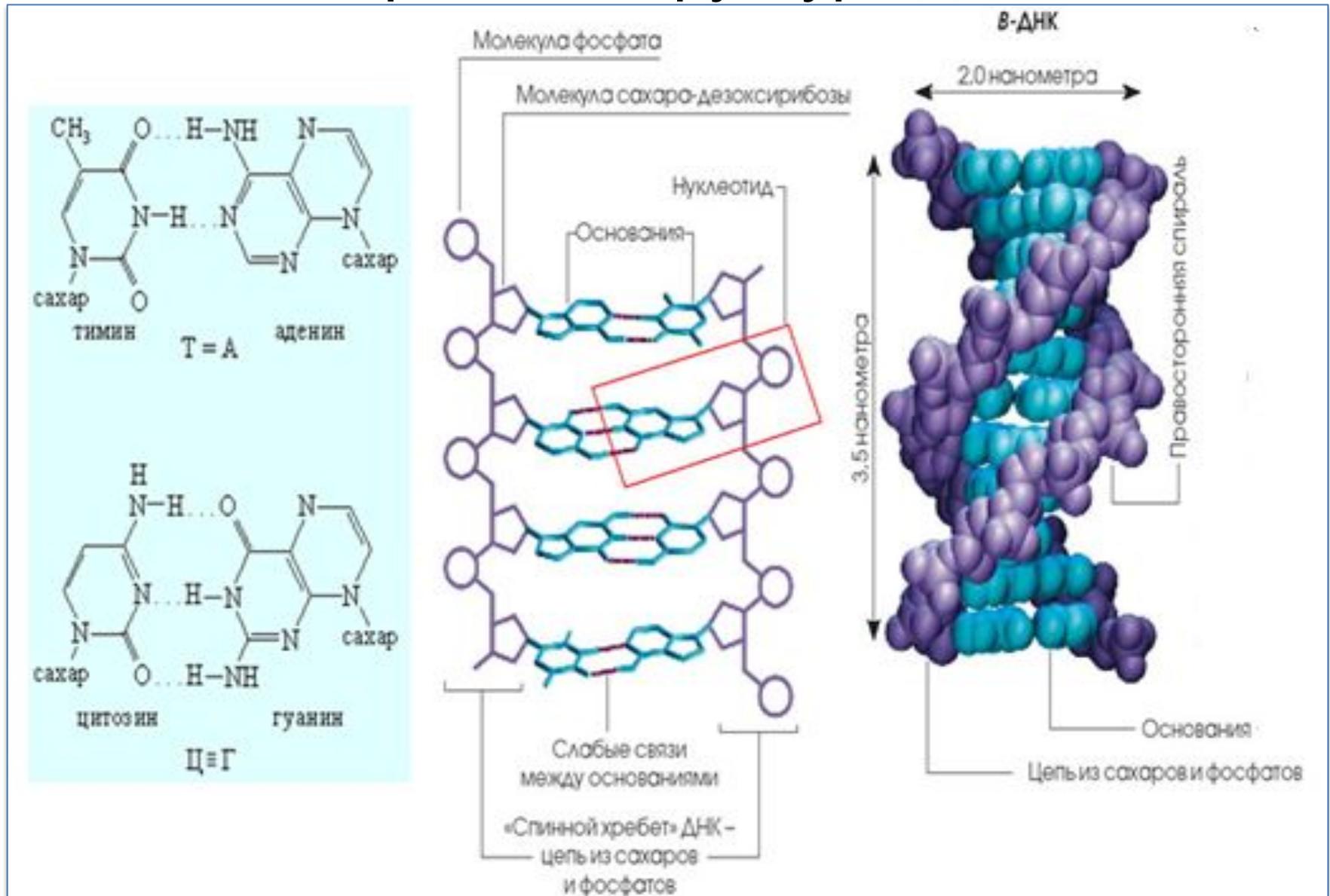


Моррис Уилкинс
(1916-2004)

- 1950 г. М. Уилкинс и Р. Франклин – рентгенограмма ДНК
- Крестообразный рисунок – знак двойной спирали
- Между последовательными нуклеотидами - 0.34 нм
- 10 нуклеотидов на виток спирали
- Диаметр 2 нм



Вторичная структура ДНК



Строение и разнообразие РНК

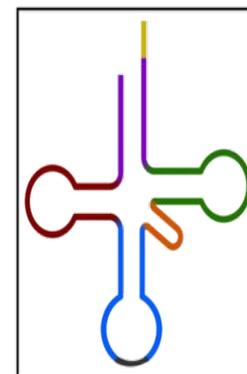
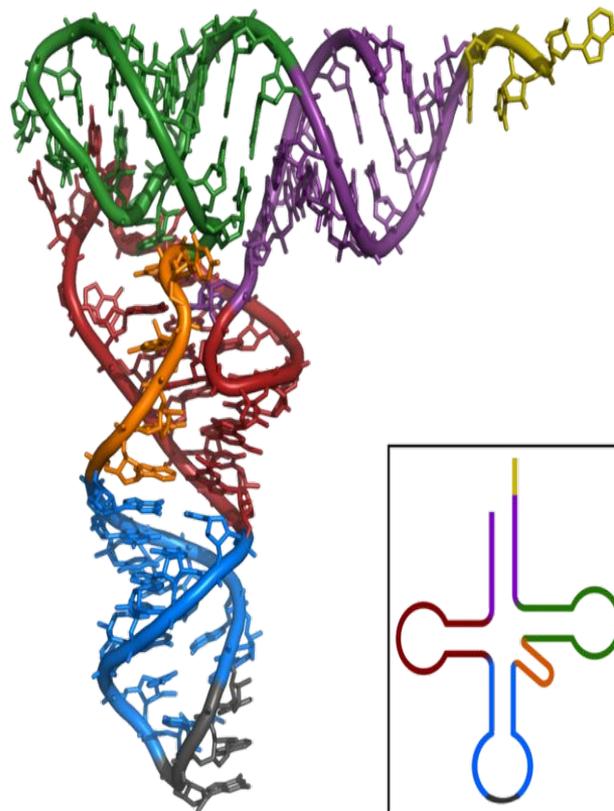
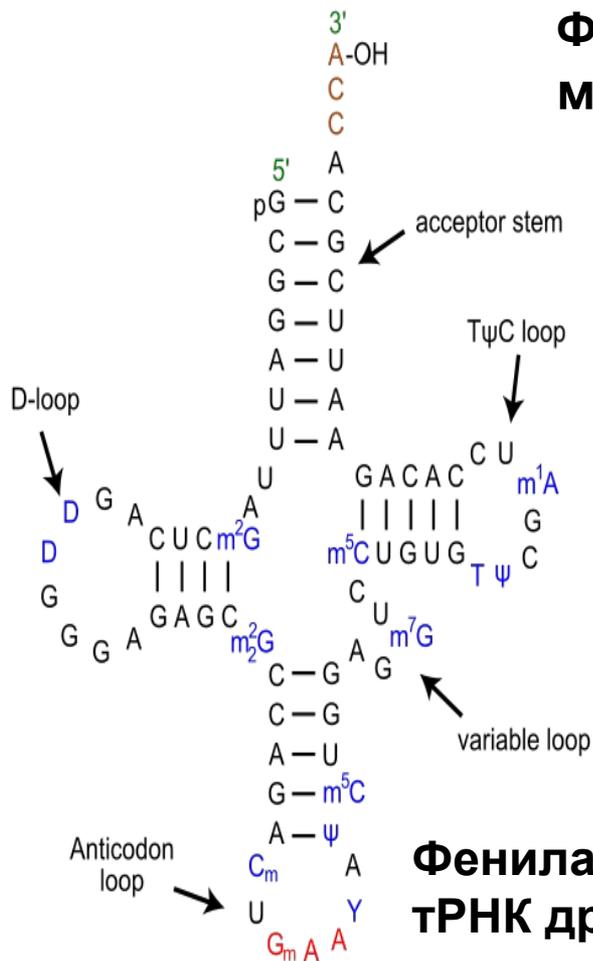
- Рибонуклеотиды
- Урацил вместо Тимина
- Одноцепочечные молекулы
- Содержание варьирует

Транспортная РНК

Транспортная (т-РНК) 80-100 нуклеотидов

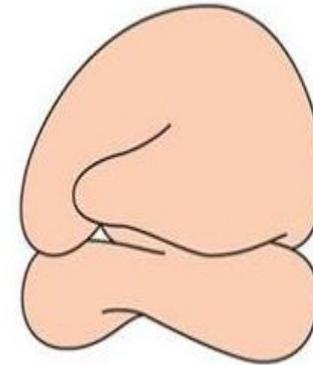
•10% всей РНК клетки

Функция: перенос аминокислоты к месту синтеза

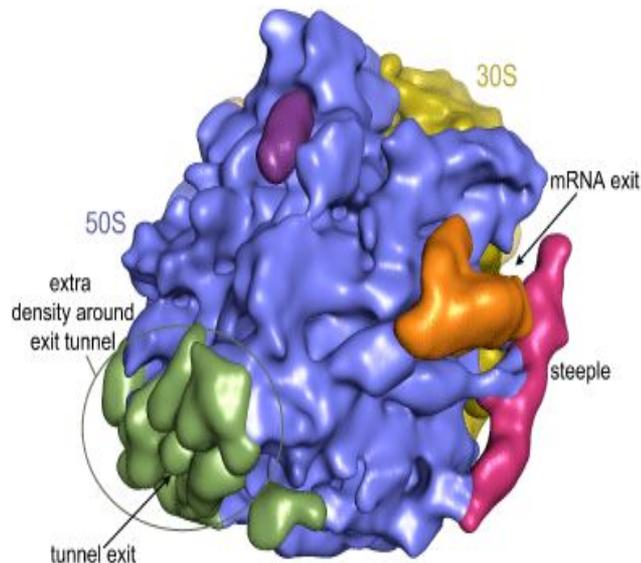


**Фенилаланиновая
тРНК дрожжей**

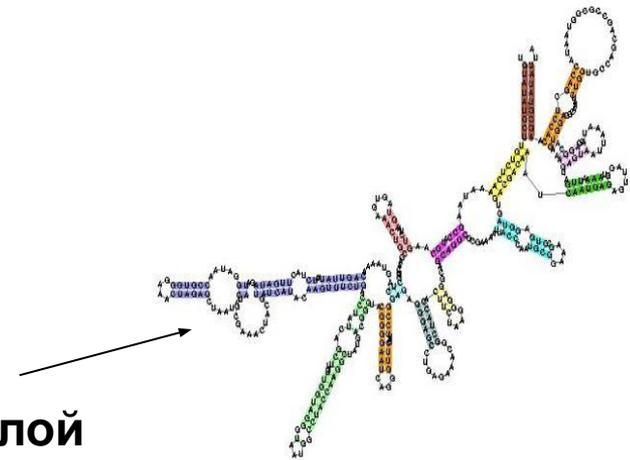
Рибосомная РНК



- Рибосомная РНК (рРНК)
- 3-5 т.н.
- 90% всей РНК клетки
- Функция: входят в состав рибосомы, синтез белка

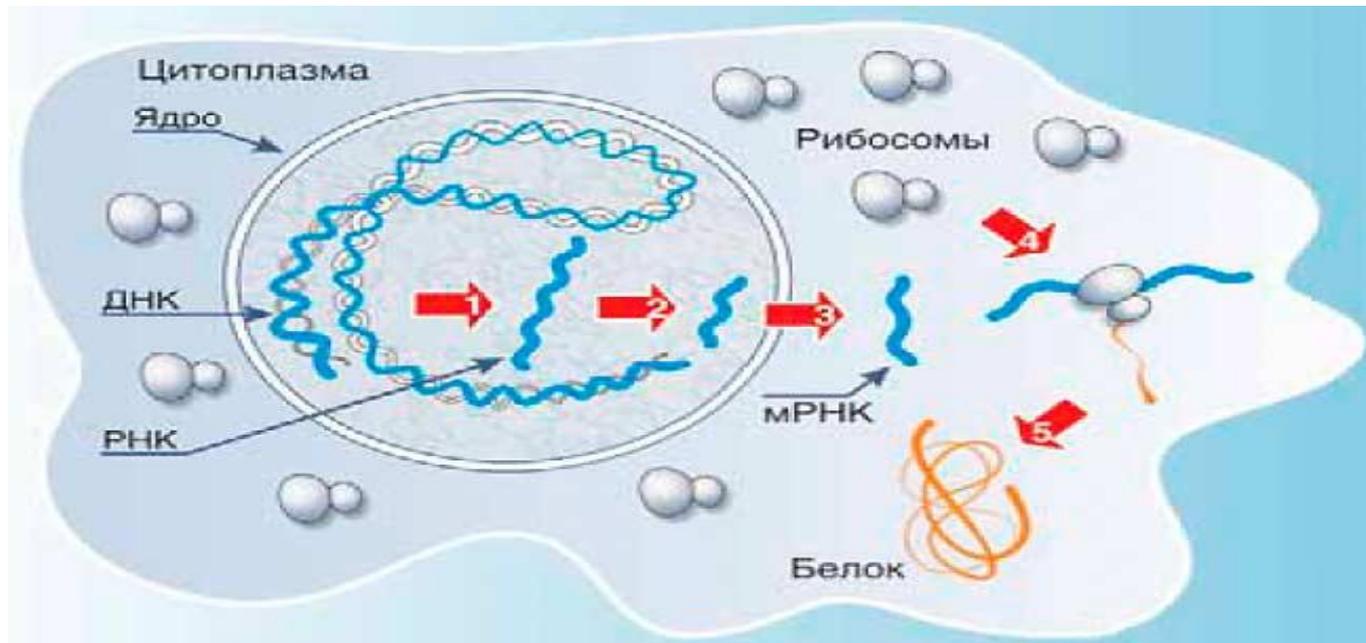


рРНК малой субъединицы рибосомы



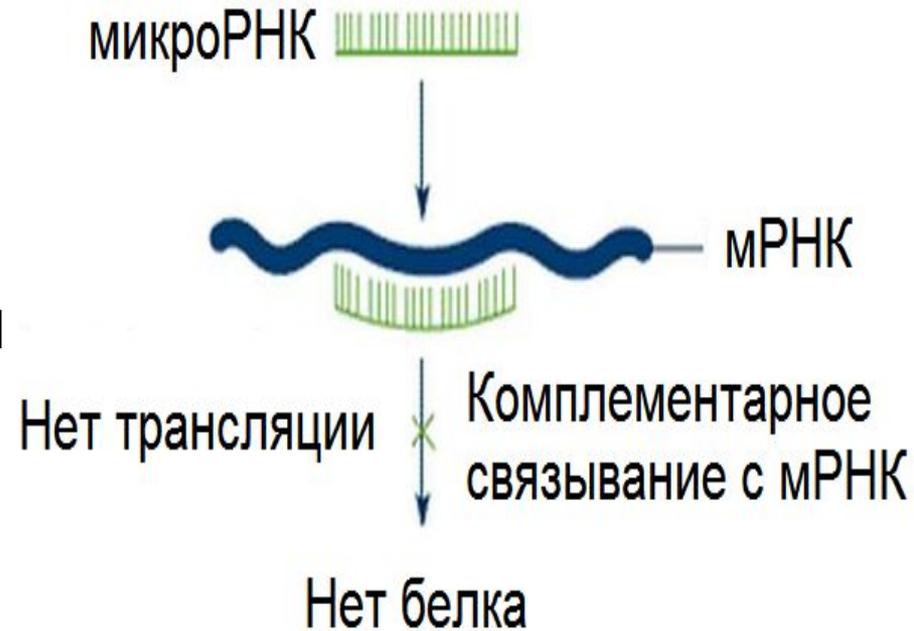
Информационная РНК

- Информационная или матричная РНК (мРНК)
- 1-100 т.н.
- 0.5-1% всей РНК клетки
- Функция: перенос информации о структуре белка от ДНК к месту синтеза белка



Микро РНК

- Класс малых РНК (около 22 нуклеотидов) – регулируют процессы экспрессии, трансляции и деградации мРНК.



- Малые ядерные РНК (мя РНК) (100-300 н.) - участие в процессинге мРНК



Проект «геном человека»

размер - 3.3 миллиарда нуклеотидов: **ATGCCCGGGTTTAATGCGTCACTGACTGCACA...**

количество генов - 35000:
цитогенетическая карта:



физическая карта:



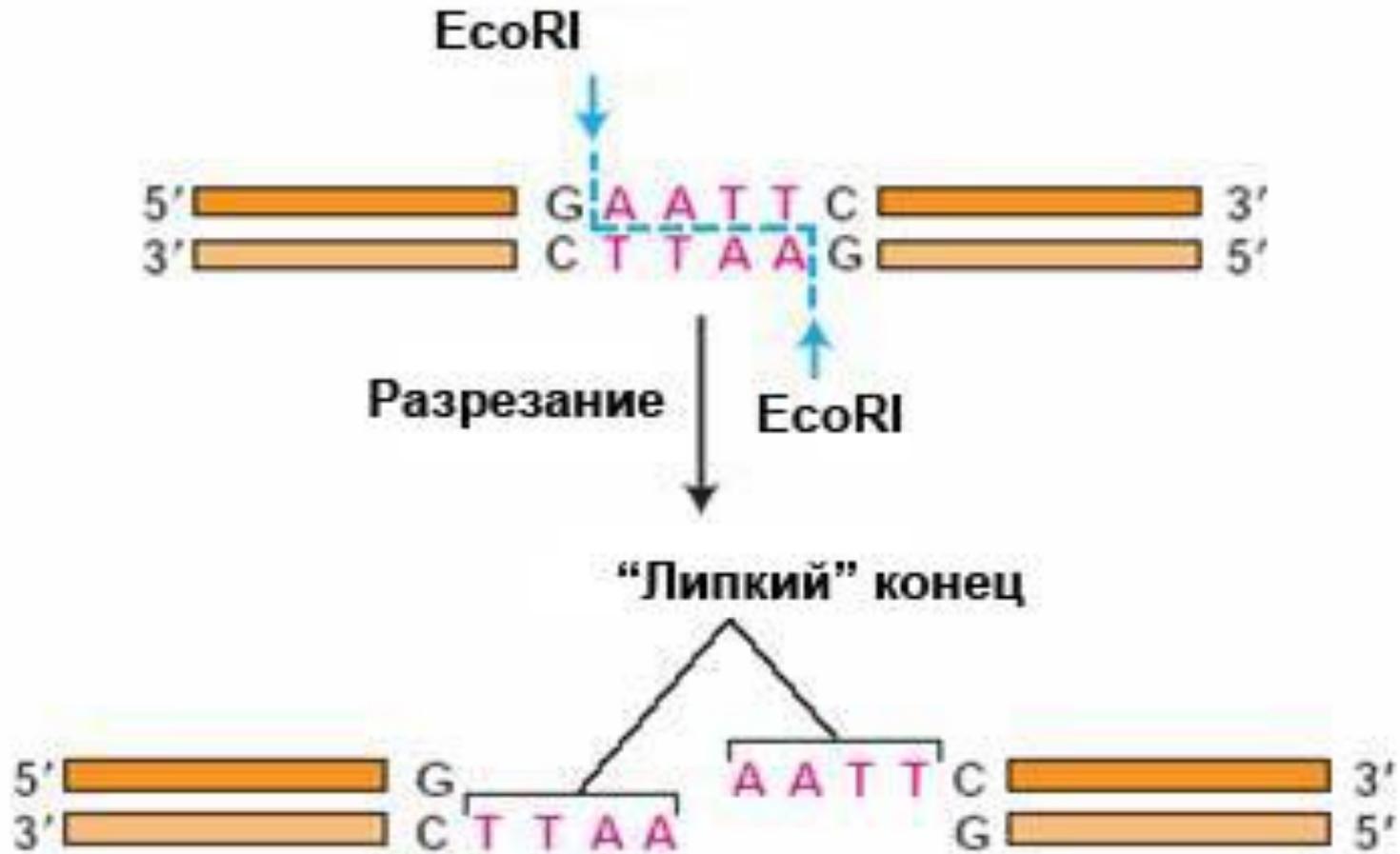
Локализация генов



Локализация мутаций

выявлено не менее 1.5 миллиона мутаций, по которым геномы людей отличаются друг от друга

Схема расщепления ДНК рестриктазой EcoRI



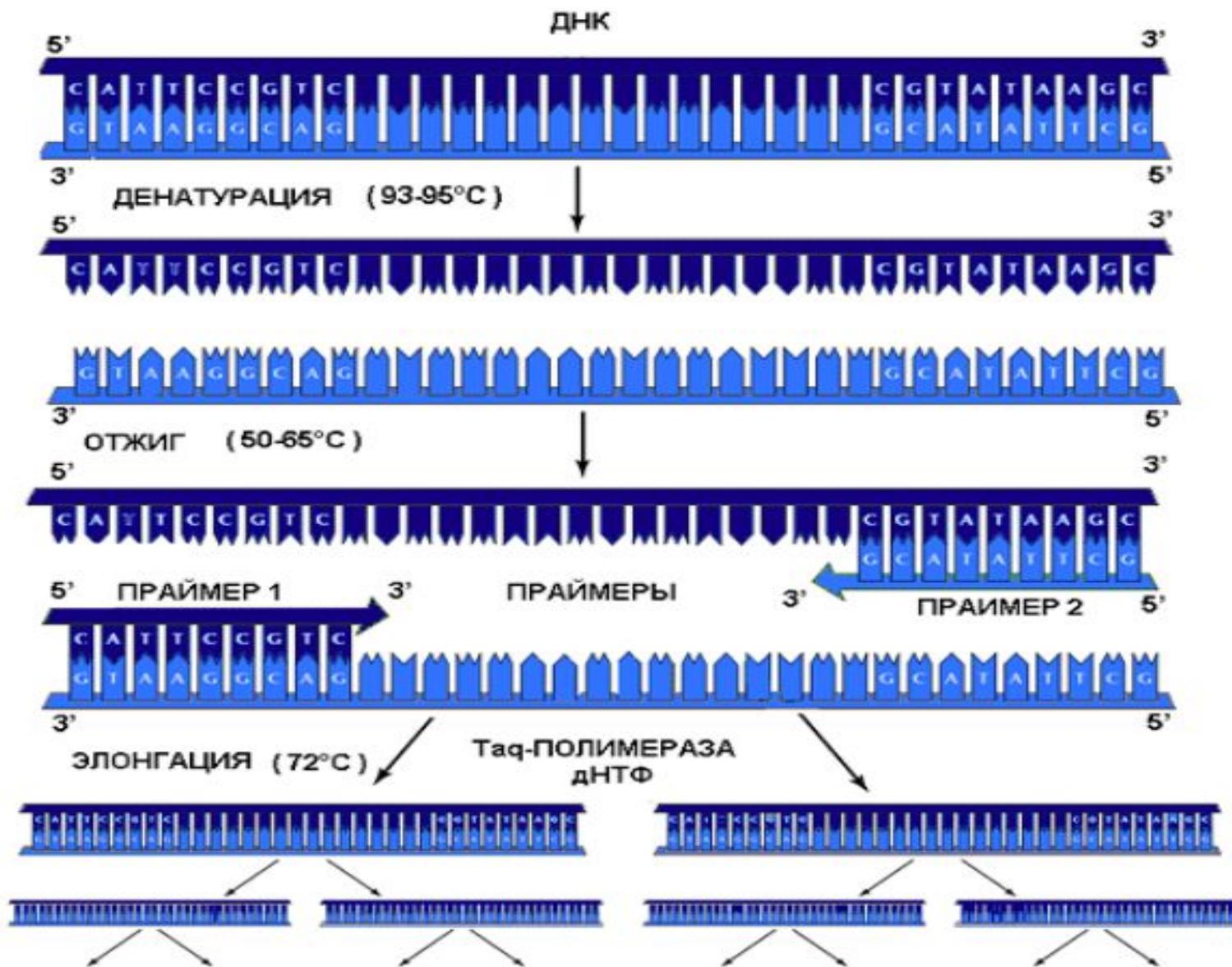
Полимеразная цепная реакция и ее применение в медицине

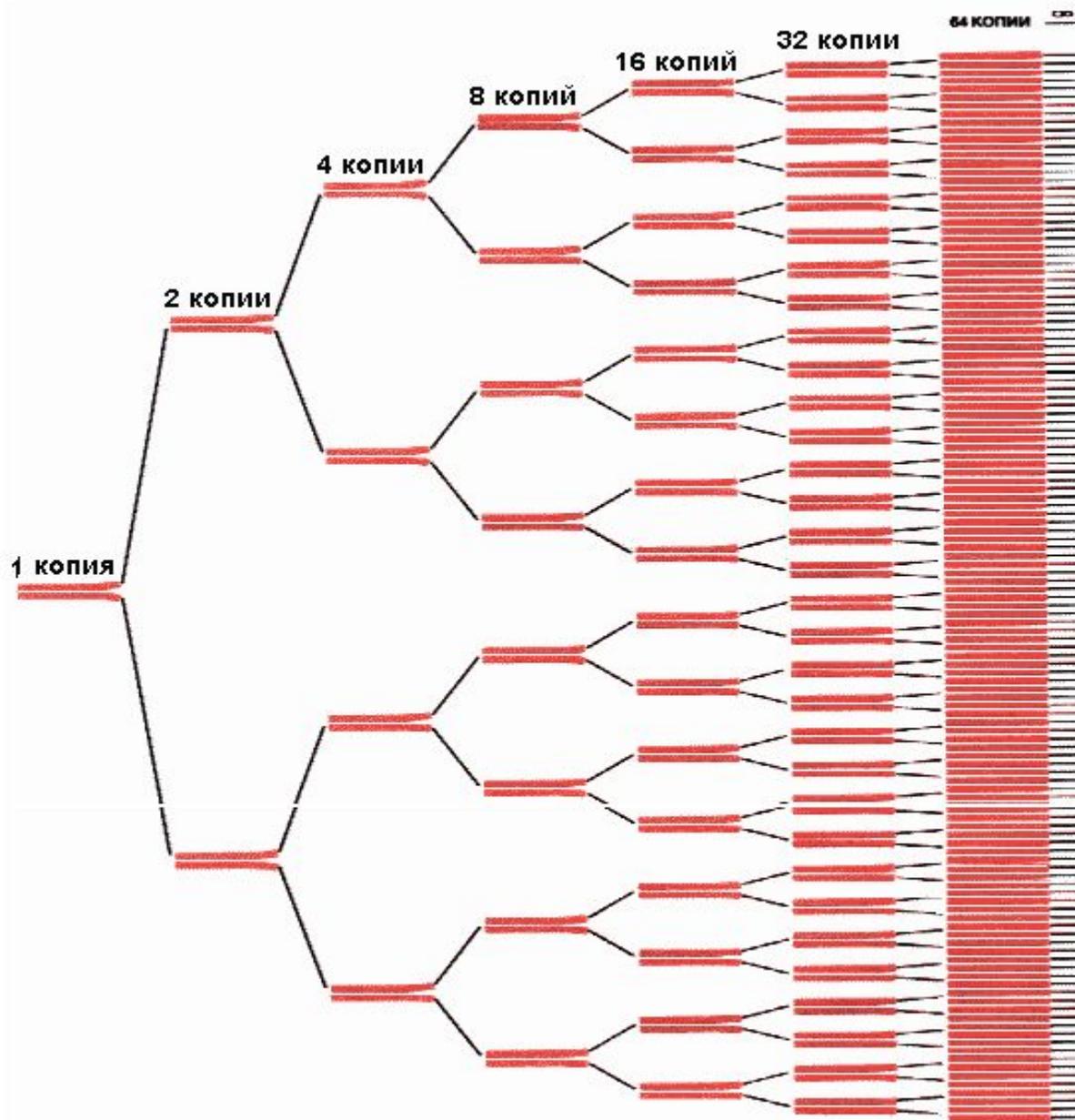
- ПЦР - увеличение числа копий (амплификация) участка ДНК, ограниченного праймерами, при помощи фермента термостойкой ДНК-полимеразы
- *In vivo* амплификация происходит в результате репликации ДНК, *in vitro* - с помощью ПЦР
- Праймер — короткая олигонуклеотидная последовательность, комплементарная участку ДНК с его 3'-конца. После присоединения праймера ДНК-полимераза начинает наращивать полидезоксирибонуклеотидную цепь



амплификатор ↗

ПЦР-анализ



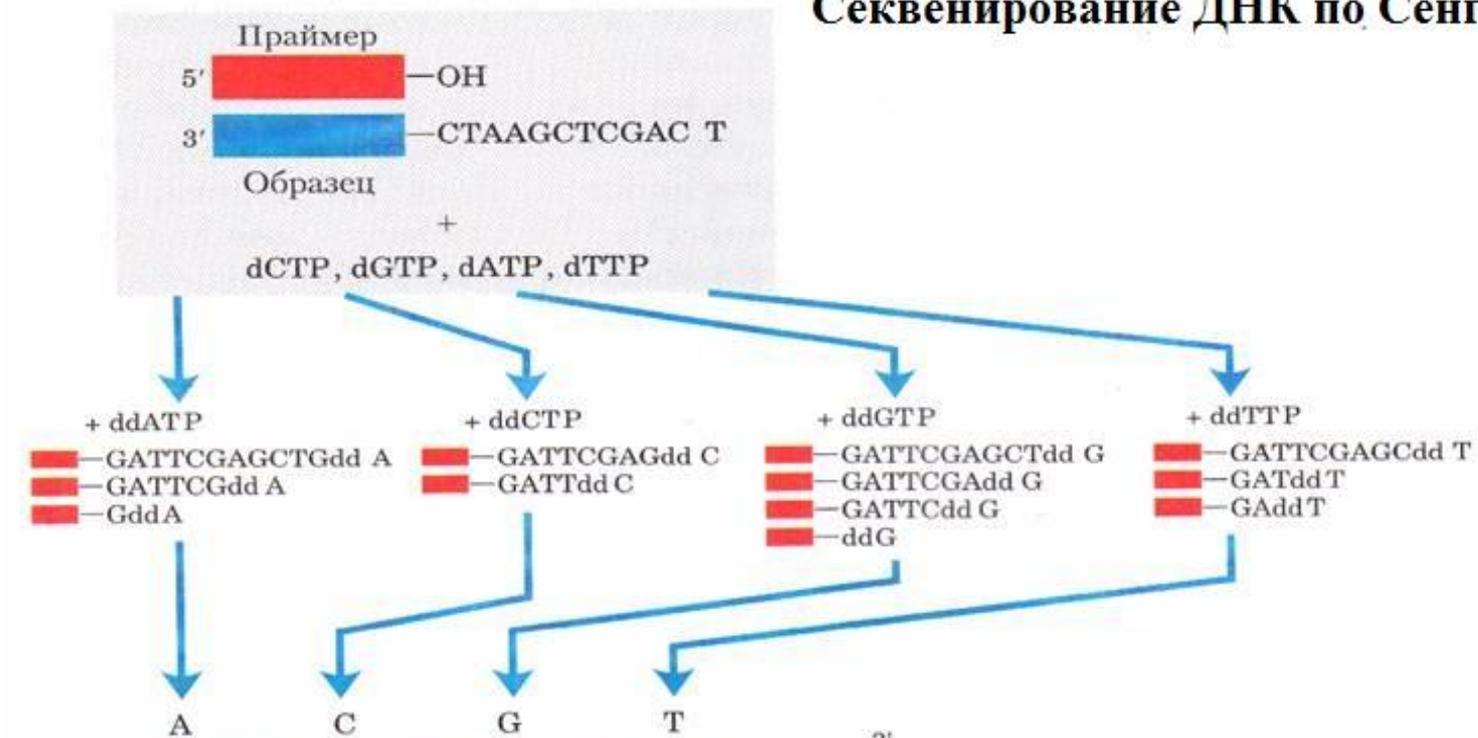


ПОЛИМЕРАЗНАЯ ЦЕПНАЯ РЕАКЦИЯ - это простой лабораторный метод копирования фрагмента ДНК с использованием легко доступных реактивов. Поскольку число копий возрастает экспоненциально, всего за несколько часов можно получить более 100 млрд. копий.

Секвенирование

- **Секвенирование нуклеиновых кислот (ДНК и РНК) — это определение их нуклеотидной последовательности**

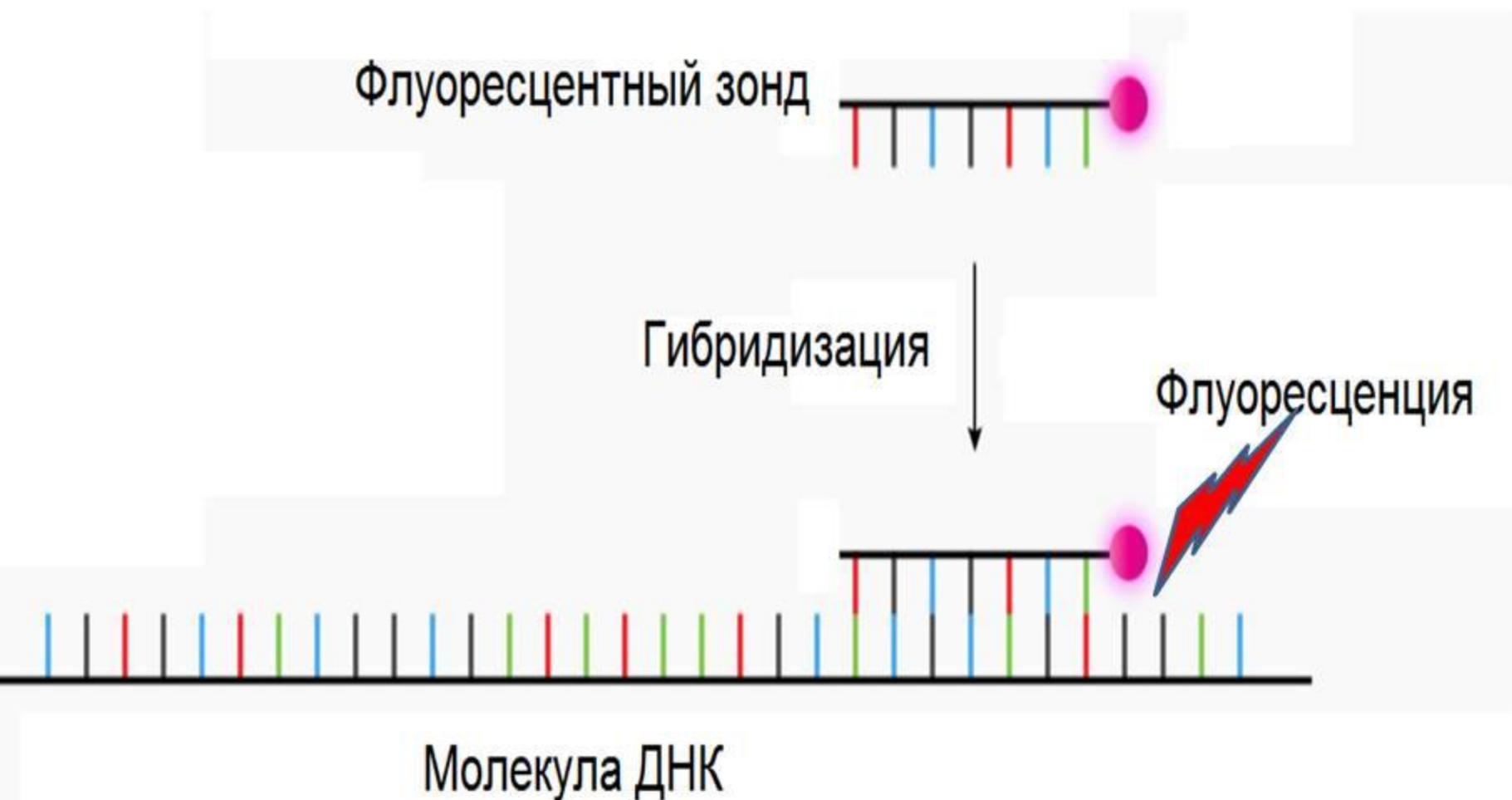
Секвенирование ДНК по Сенгеру



Автордиограмма электрофоретического геля

Последовательность комплементарной цепи

Использование зондов (олигонуклеотидных фрагментов) для детекции ДНК



Биологические функции нуклеиновых кислот

ДНК

- Хранение генетической информации

РНК

- Хранение генетической информации (м-РНК, РНК-вирусы)
- Передача генетической информации (м-РНК, т-РНК, р-РНК)
- Биокаталитическая (РНК с каталитической активностью называются рибозимами)

Функции мононуклеотидов

- Структурная: входят в состав НК и коферментов
- Энергетическая: в трифосфатной форме аккумулируют энергию

АТФ образуется путем окислительного и субстратного фосфорилирования, а другие НТФ путем переноса Фн с АТФ на НДФ под действием киназ

- Регуляторная: нуклеотиды могут быть аллостерическими эффекторами ферментов
- Сигнальная

Пуринорецепторы

Аденозиновые (P1) рецепторы

A1 A2a A2B A3

G-протеин опосредуемые рецепторы (A2a и A2B сопряжены с Gs, A1 и A3 сопряжены с Gi)

Вторичные посредники:
аденилатциклаза, ц-АМФ

A2B и A3 сопряжены с Gq и стимулируют ФЛ

Лиганд: Аденозин

Локализация: нейтрофилы, эозинофилы, лимфоциты, макрофаги и др.

P2-рецепторы

Семейство P2X

Лиганд-опосредуемый ионный канал, регулирует вход Na^+ , K^+ , Ca^{2+}

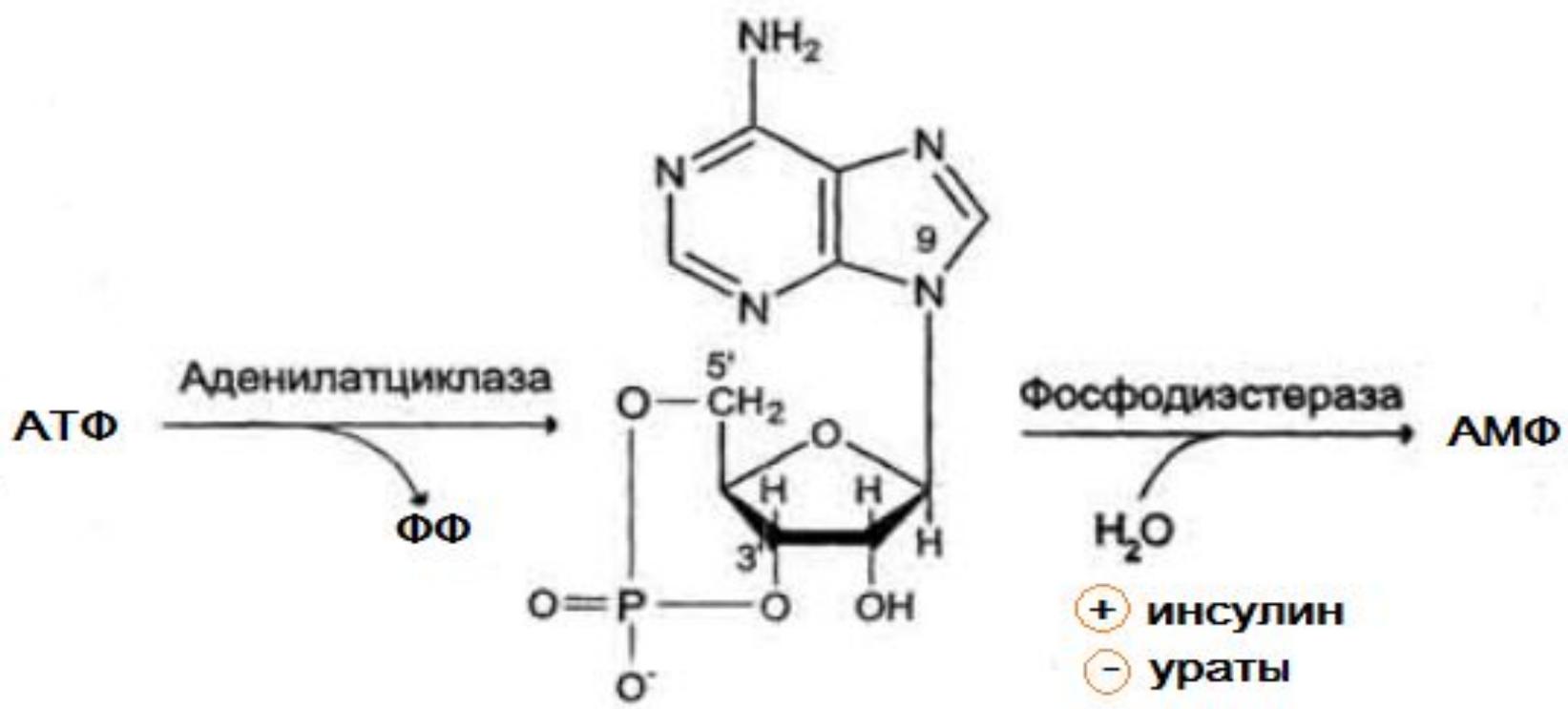
Семейство P2Y

G-протеин опосредуемый рецептор. Вторичные посредники: чаще ФЛС, И3Ф, может быть ФЛА2, Арахидоновая кислота, аденилатциклаза, ц-АМФ

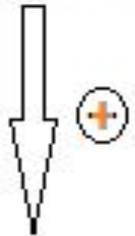
Лиганды: АТФ, АДФ, УТФ, УДФ

Локализация: клетки

гладкомышечных органов, клетки различных отделов головного и спинного мозга, иммунные клетки, тромбоциты и др.

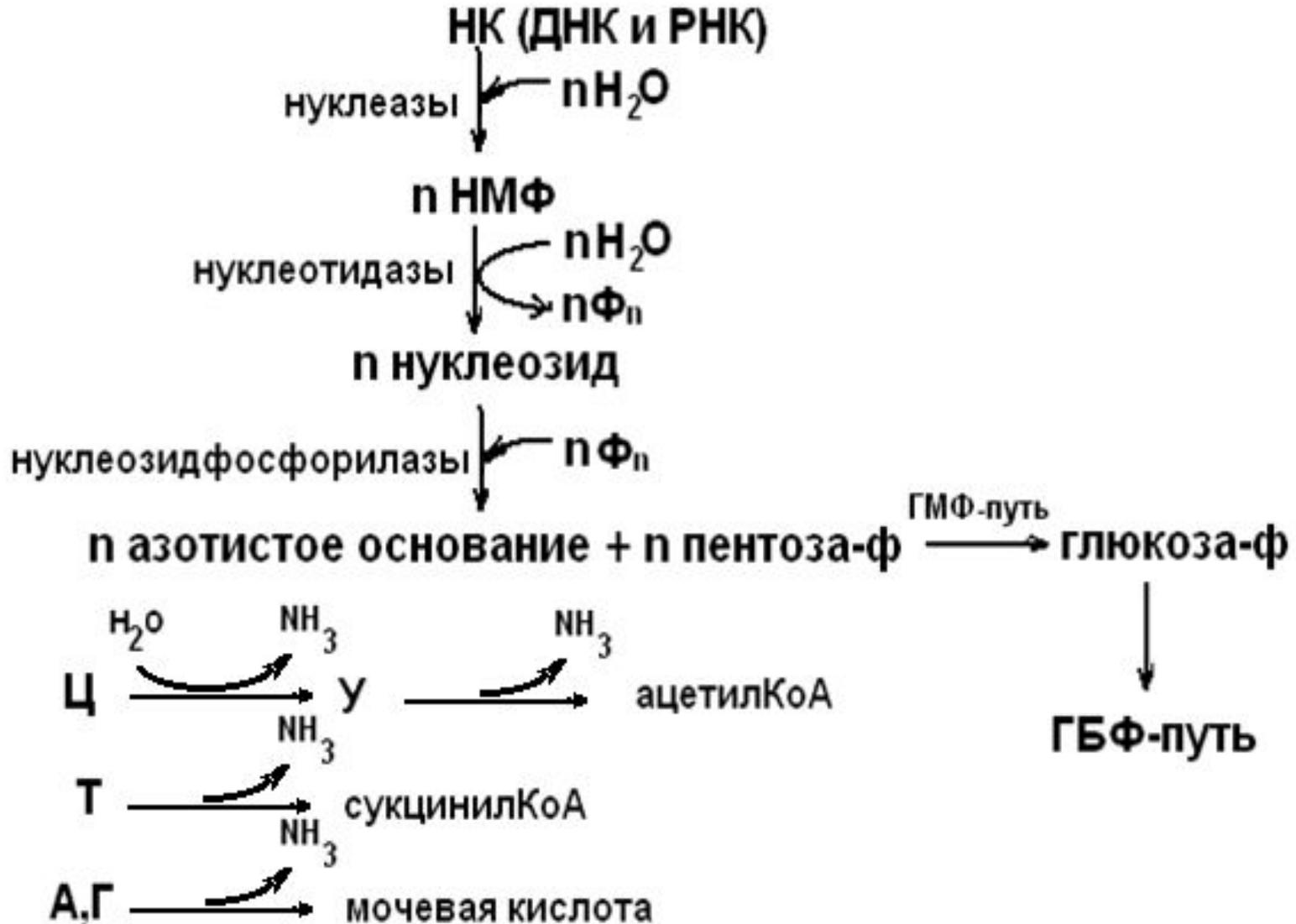


Циклический аденозин-3', 5'-монофосфат (цАМФ)

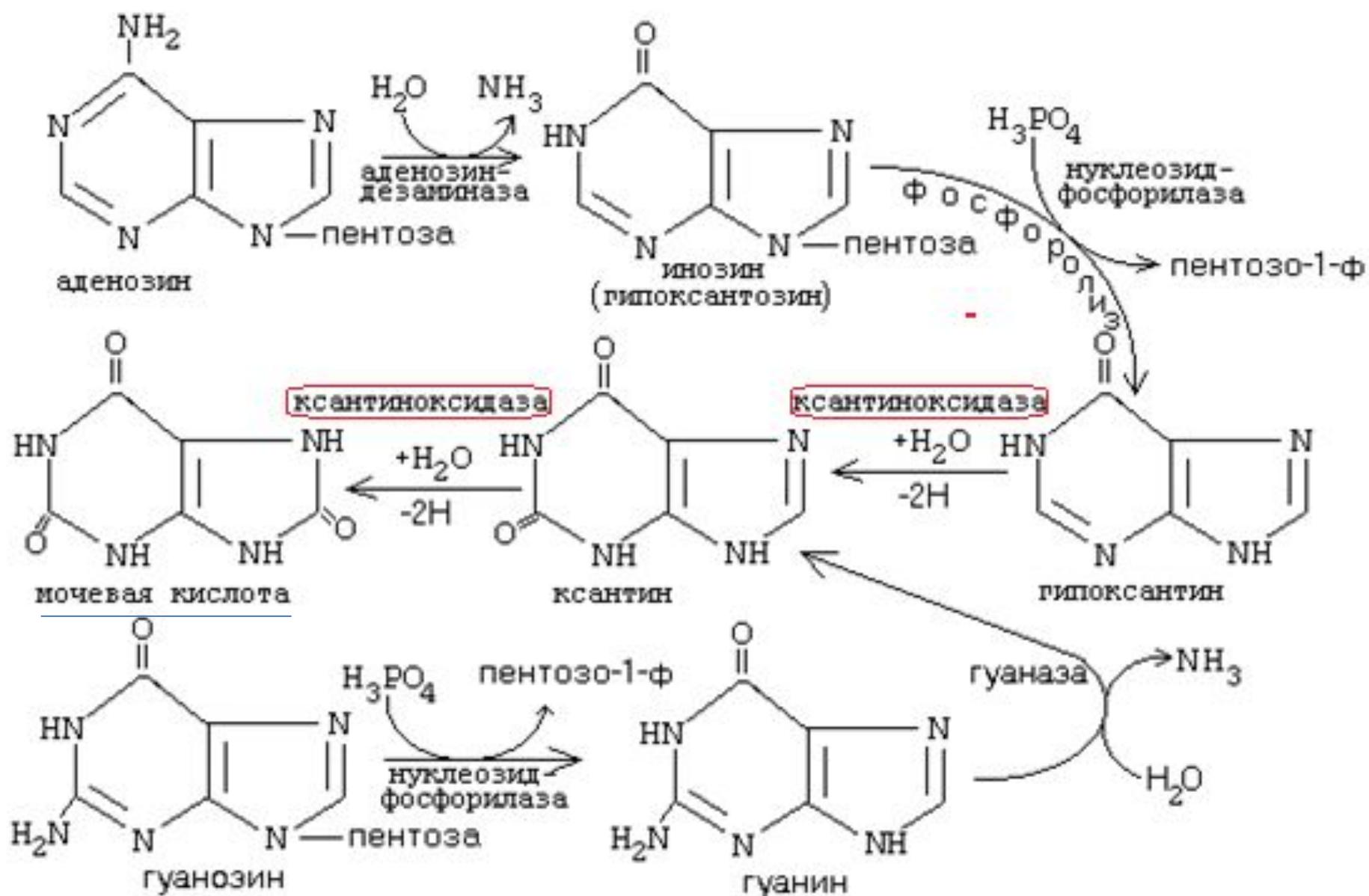


Протеинкиназа А

Схема катаболизма нуклеиновых кислот



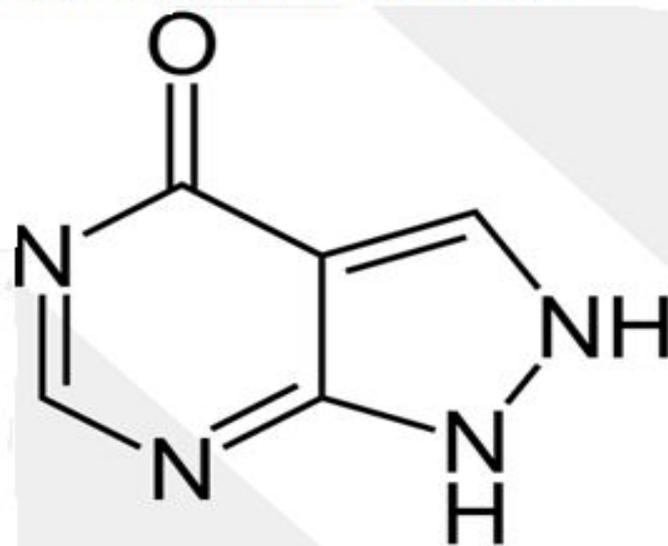
Катаболизм пуриновых нуклеозидов



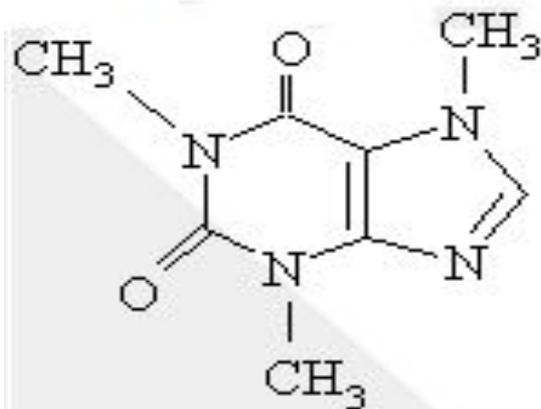
Факторы развития подагры

- **Наследственная предрасположенность;**
- **к факторам риска развития подагры относят артериальную гипертонию, гиперлипидемию;**
- **повышенное поступление в организм пуриновых оснований, например, при употреблении большого количества красного мяса (особенно субпродуктов), некоторых сортов рыбы, кофе, какао, чая, шоколада, гороха, чечевицы, алкоголя (особенно пива, содержащего много гуанозина и ксантина—предшественников мочевой кислоты);**
- **увеличение катаболизма пуриновых нуклеотидов (например, при противоопухолевой терапии; массивном апоптозе у людей с аутоиммунными болезнями);**
- **торможение выведения мочевой кислоты с мочой (например, при почечной недостаточности);**
- **повышенный синтез мочевой кислоты при одновременном снижении выведения её из организма (например, при злоупотреблении алкоголем, шоковых состояниях.**

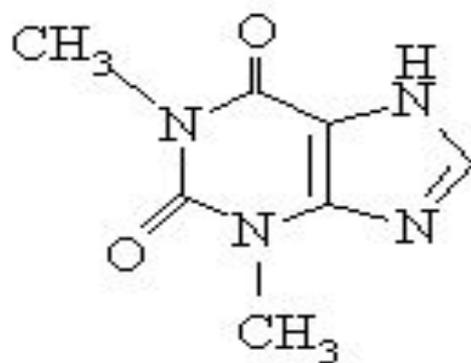
аллопуринол -
ингибитор ксантинооксидазы



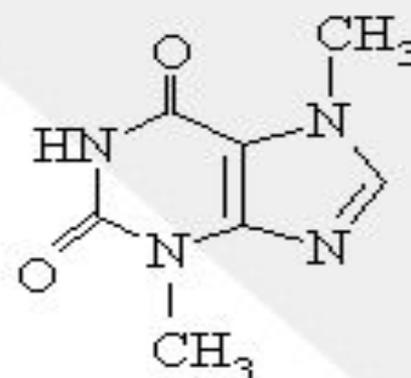
растительные алкалоиды - стимуляторы ЦНС



Кофеин



Теofilлин



Теобромин

Лекция №2

АНАБОЛИЗМ
МОНОНУКЛЕОТИДОВ
И
НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ

Синтез моноклеотидов

Для синтеза de novo необходимы продукты метаболизма углеводов и белков:

Рибоза-5-фосфат (из ГМФ-пути)

Заменяемые аминокислоты:

Глн, Асп, Сер, Гли

CO₂

Особенности синтеза нуклеотидов de novo

- 1) Ферменты в клетках представлены большими мультиферментными комплексами, некоторые белки этих комплексов обладают несколькими ферментативными активностями
- 2) Клеточный пул нуклеотидов (всех, кроме АТФ) невелик и составляет ~ 1 % от нужного количества для синтеза ДНК и РНК. Синтез нуклеотидов продолжается и во время образования НК и в некоторых случаях может лимитировать скорость репликации и транскрипции.

Механизмы участия аминокислот в синтезе нуклеотидов

Поставляют атомы азота:

Глн \longrightarrow Глу ; Асп \longrightarrow фумарат

Поставляют одноуглеродные радикалы:

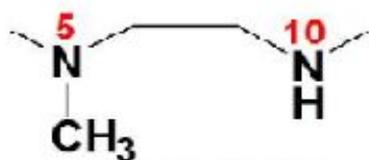
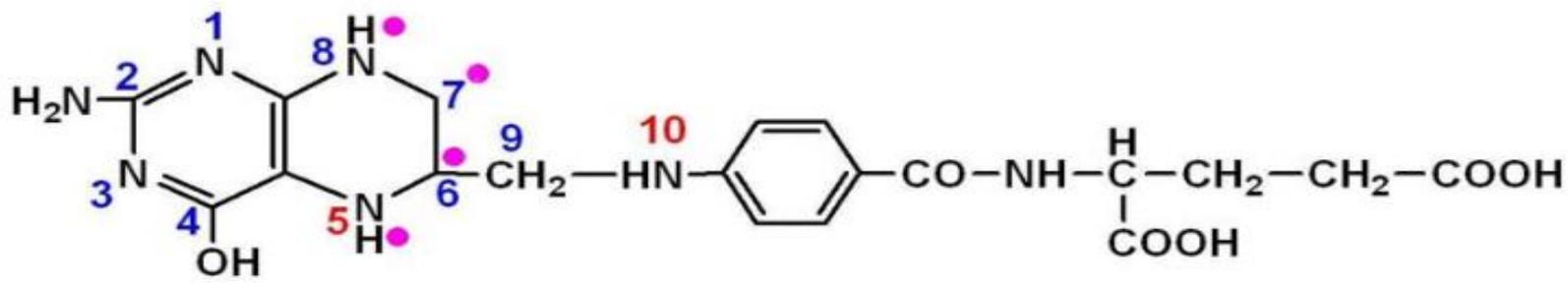
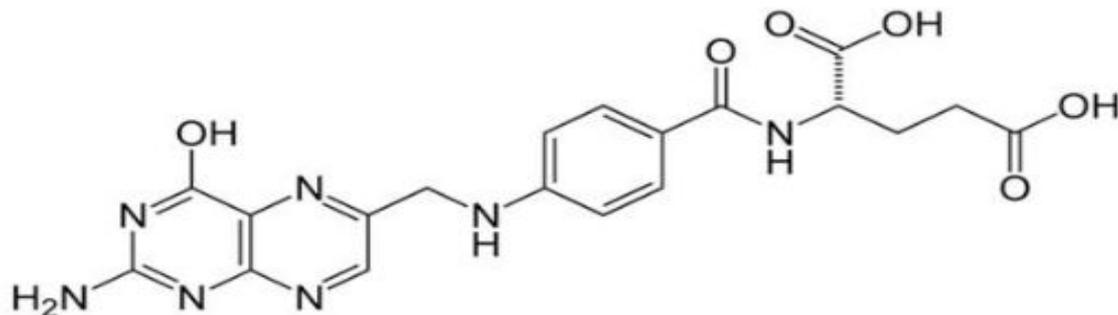
Сер, Гли

Встраиваются всей молекулой в циклическое ядро азотистого основания:

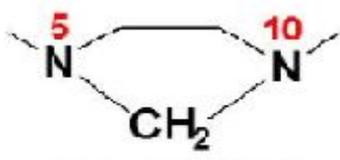
Гли в пуриновое

Асп в пиримидиновое

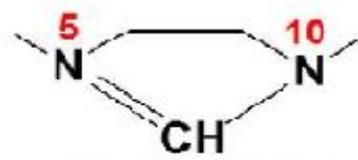
Фолиевая кислота (ФК) и тетрагидрофолиевая кислота (ТГФК). Активный С1-фолат



Метил-ТГФК



Метилен-ТГФК

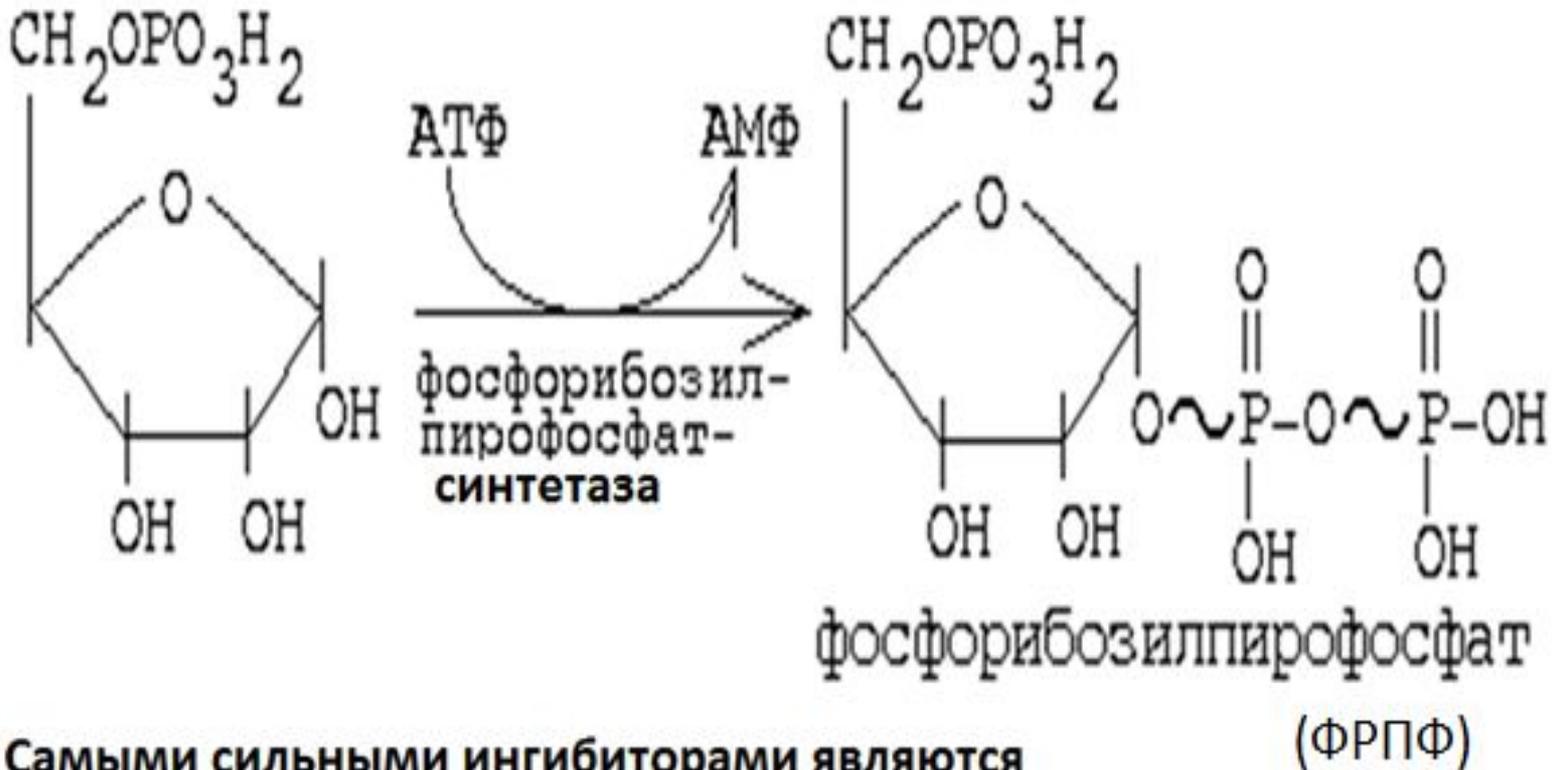


Метенил-ТГФК



Формил-ТГФК

Ключевой реакцией синтеза нуклеотидов является реакция образования активной формы рибоза-5-ф - (ФРПР)

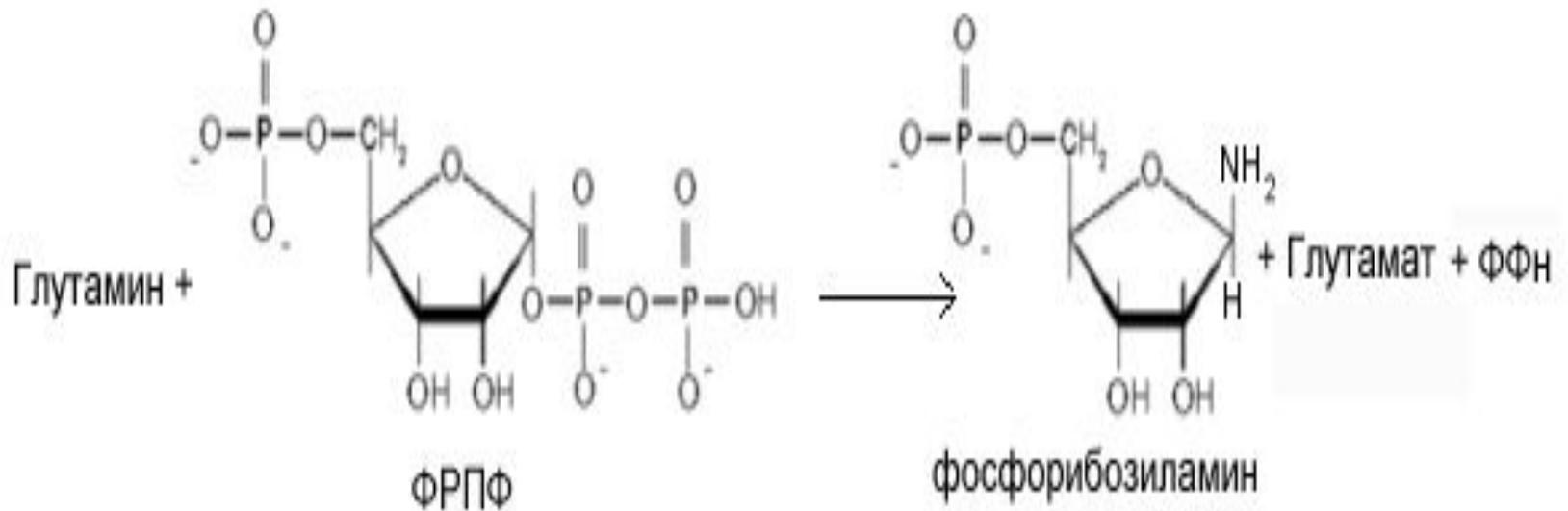


Самыми сильными ингибиторами являются

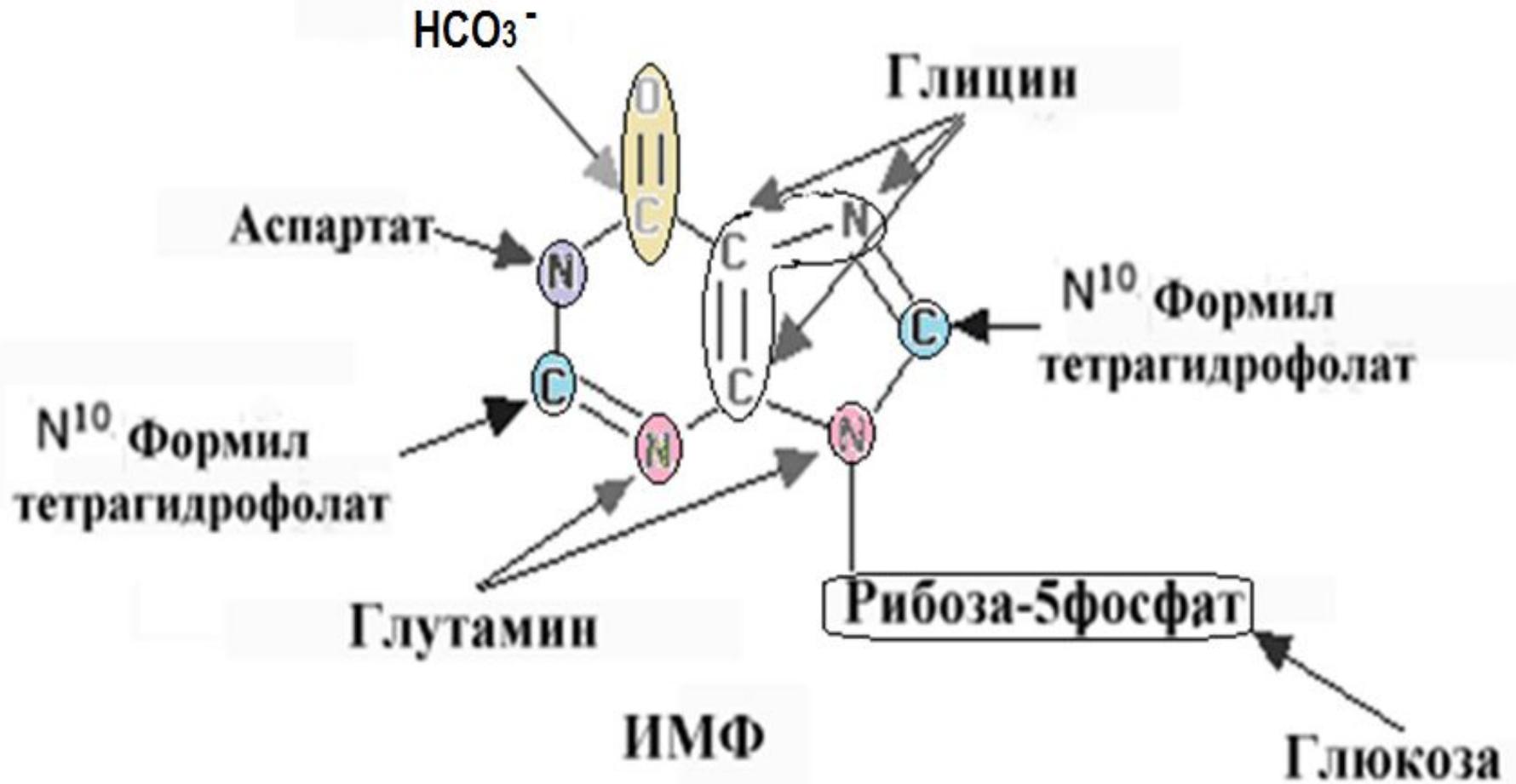
АМФ ГМФ ИМФ

Ф_н - активатор

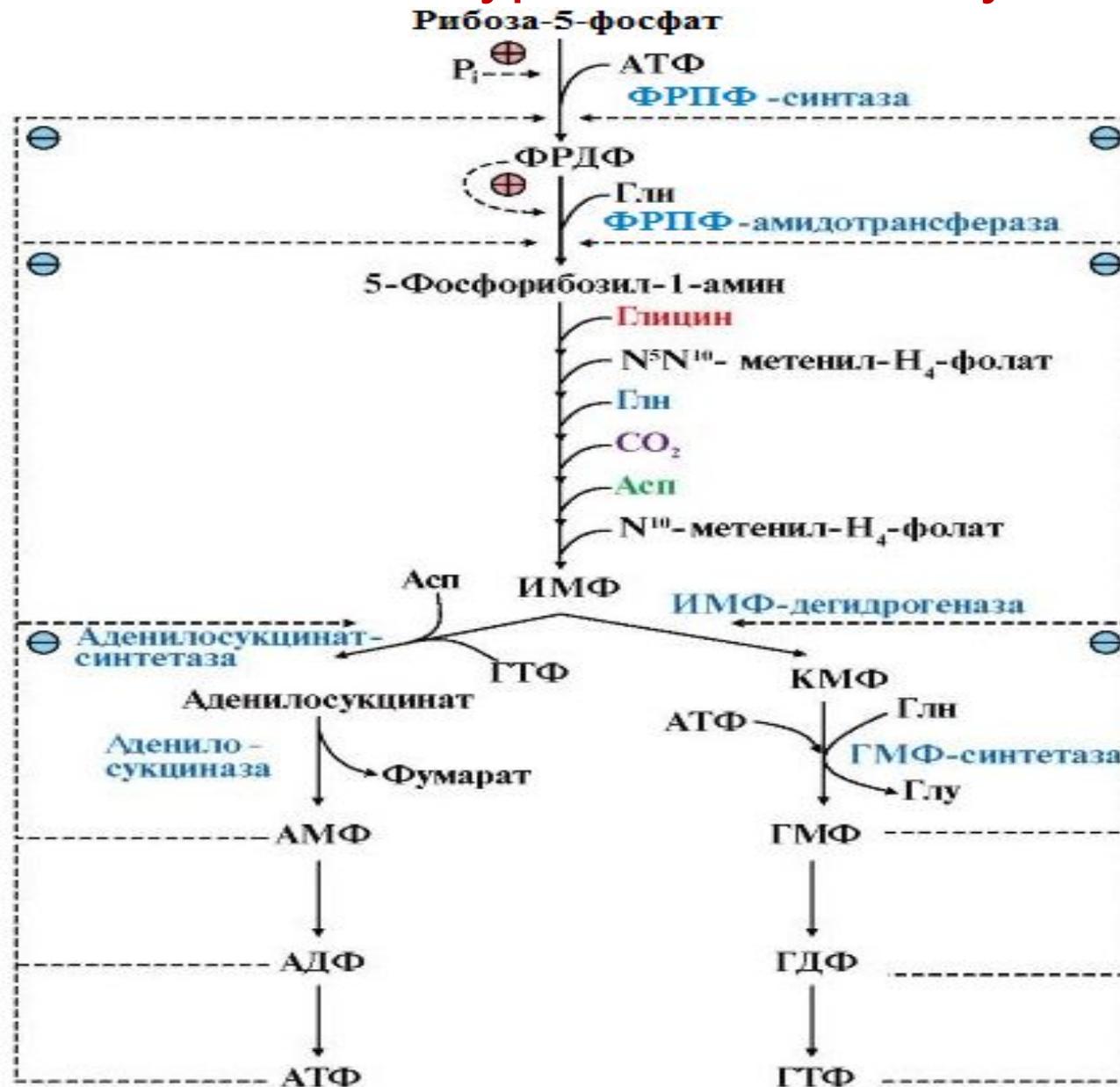
Ключевая реакция биосинтеза пуриновых нуклеотидов происходит активно в цитозоле печени с помощью фермента **ФРПР-амидотрансферазы**



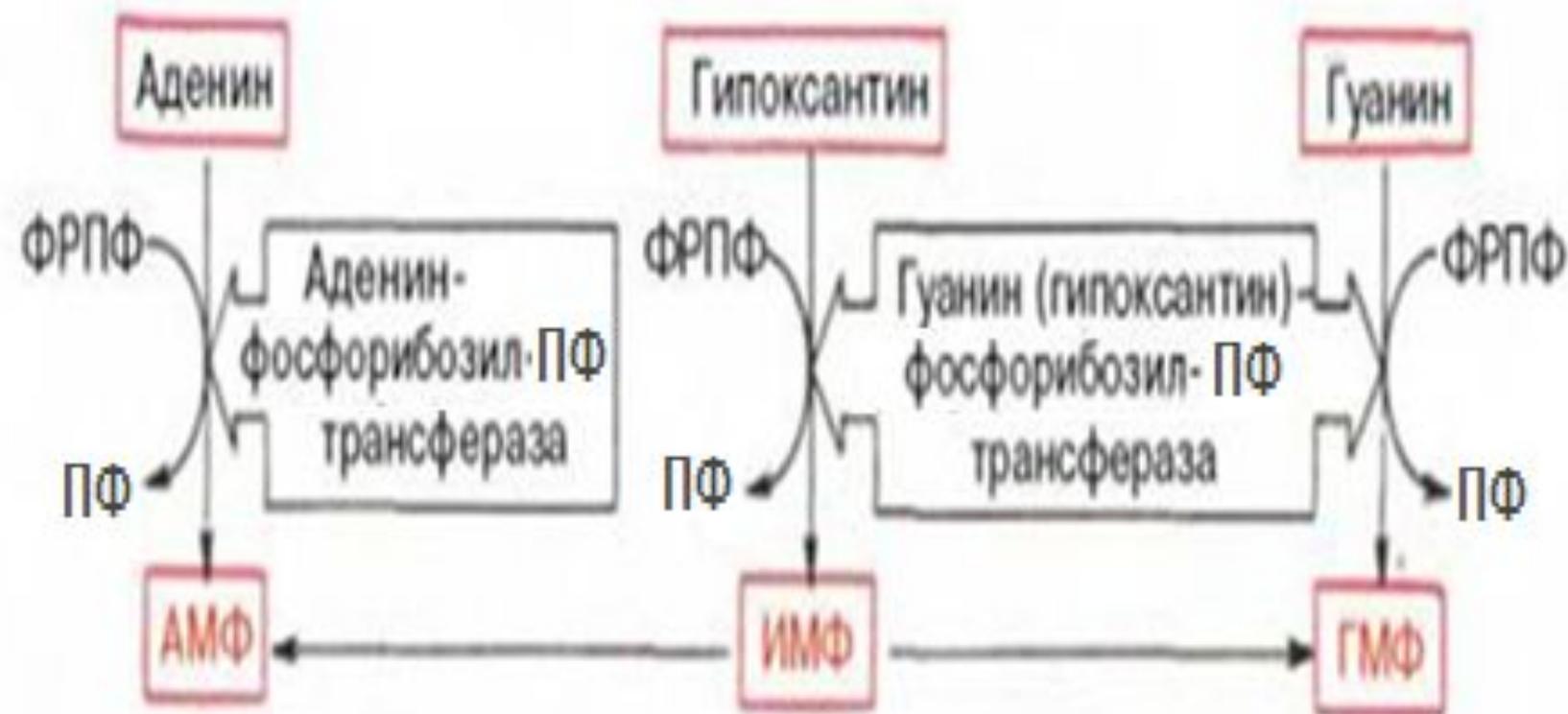
Происхождение атомов в общем предшественнике пуриновых нуклеотидов



Регуляция синтеза пуриновых мононуклеотидов



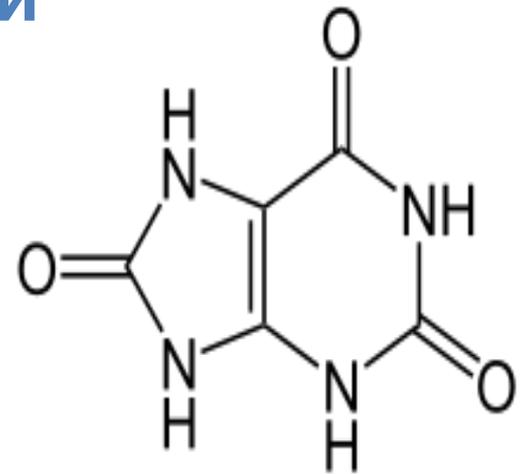
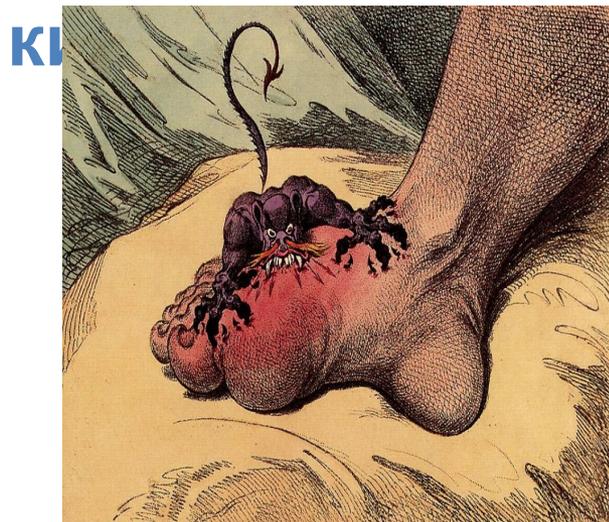
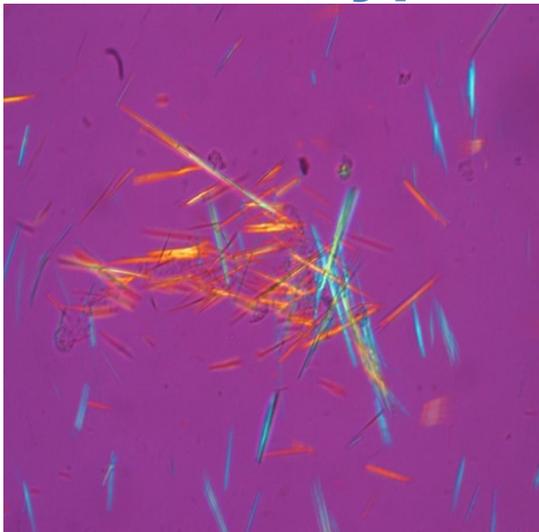
Резервные пути синтеза пуриновых нуклеотидов – реутилизация пуриновых азотистых оснований, получающихся в ходе катаболизма



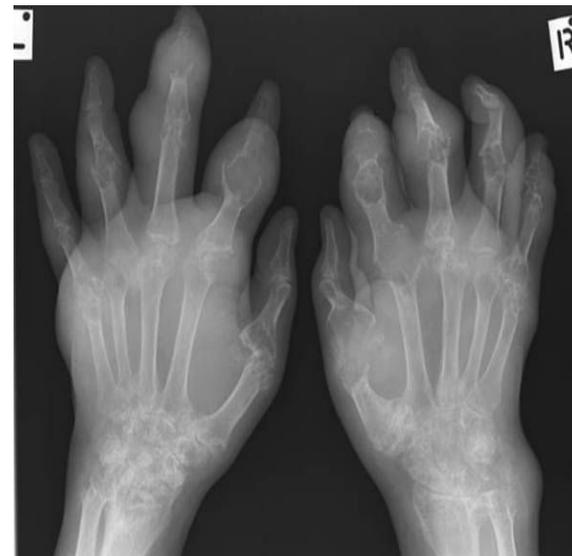
Нарушения синтеза пуриновых нуклеотидов

Болезнь	Дефект	Природа дефекта
Подагра	ФРПФ синтетаза	Фермент устойчив к торможению продуктами (АМФ, ГМФ, ИМФ)
Подагра	ФРПФ синтетаза	Увеличение активности фермента из-за повышенный V_{max}
Подагра	ФРПФ синтетаза	Фермент имеет высокое сродство к рибоза-5-ф (снижение K_m)
Подагра	ГГФРТ (Гипоксантин-гуанин фосфорибозилтрансфераза)	Частично дефектный фермент
Синдром Леша-Нихана	ГГФРТ	Отсутствие фермента

Подáгра (др.-греч. ποδάγρα — ножной капкан от ποῦς — нога и ἄγρα — захват) — заболевание, которое характеризуется отложением в различных тканях организма кристаллов уратов в форме моноурата натрия или мочевой



Подагра

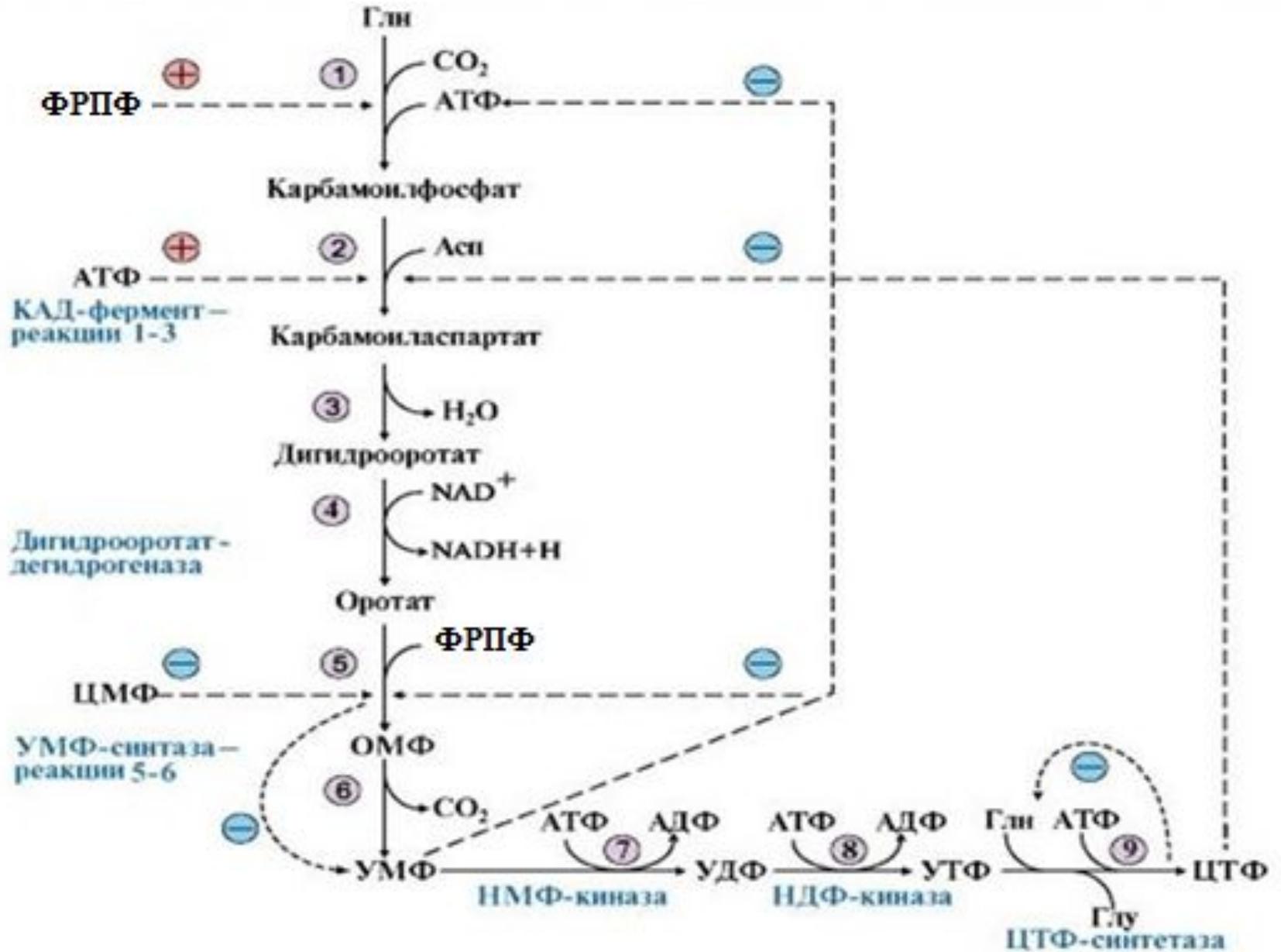


**Клинически подагра
проявляется рецидивирующим
острым артритом и образованием
подагрических узлов — тофусов.**

Отложение уратов в мочевыводящих путях приводит к развитию мочекаменной болезни (уролитиазу)



Синтез пиримидиновых нуклеотидов и его регуляция



- **1-3 - КАД-фермент**

(1-карбамоилфосфатсинтетаза, КФС II; 2 - аспартаттранскарбамоилаза (АТК); 3 –дигидрооротаза)

- **4 - дигидрооротатдегидрогеназа;**

- **5, 6 - УМФ-синтаза**

(5-оротатфосфорибозилтрансфераза; 6 - ОМФ-декарбоксилаза);

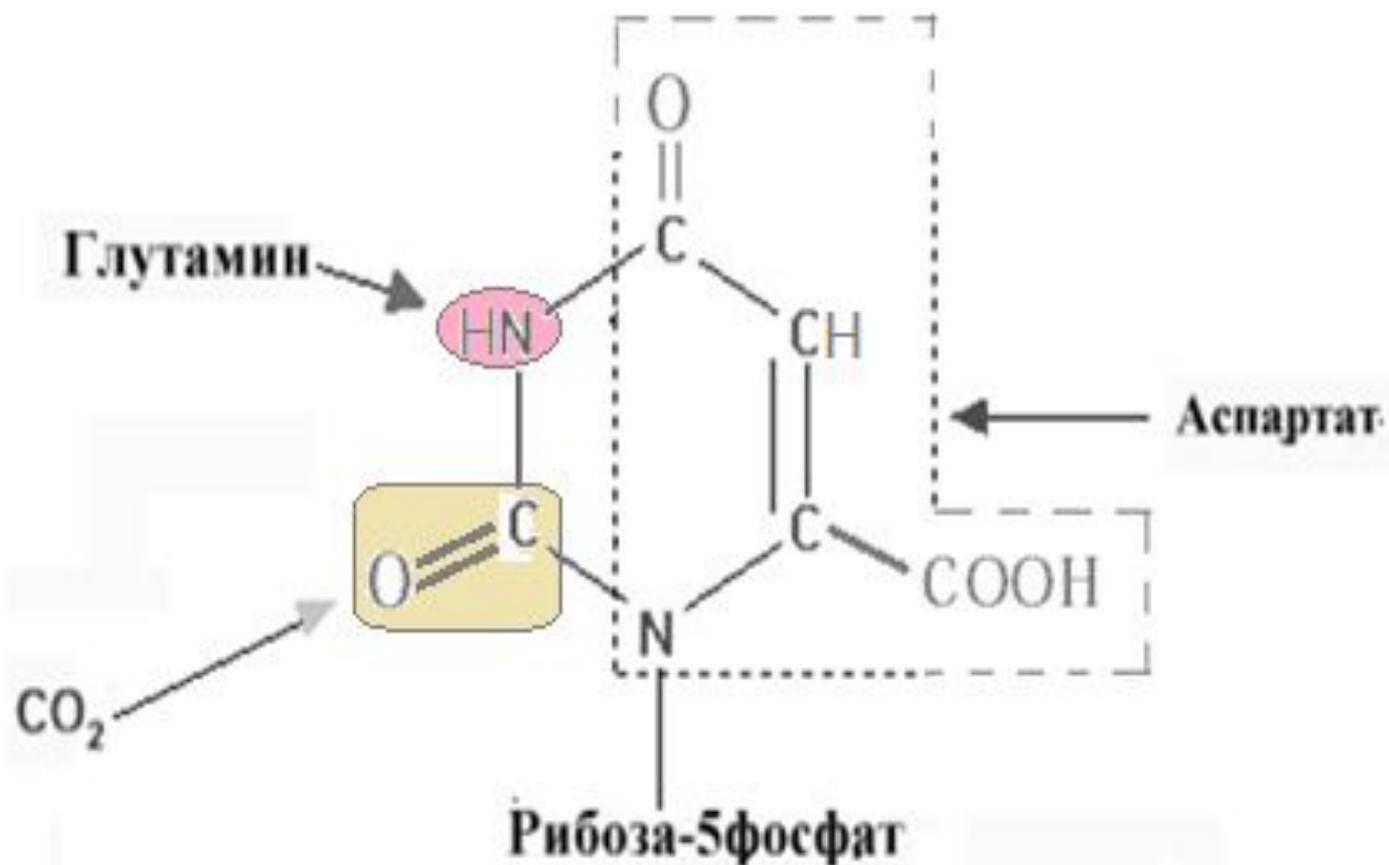
7 - НМФ-киназа;

8 - НДФ-киназа;

9 - ЦТФ-синтетаза.

Аллостерически регулируются по механизму отрицательной обратной связи карбамоилфосфатсинтетазная и аспататтранскарбамоилазная активности КАД-фермента конечными продуктами метаболического пути - УМФ и ЦТФ, тогда как ФРПФ активизирует КФС II, а АТФ - АТК

Происхождение атомов в общем предшественнике пиримидиновых нуклеотидов – оротидинмонофосфате (ОМФ)



Нарушение синтеза пиримидинов *de novo*.

Оротовая ацидурия

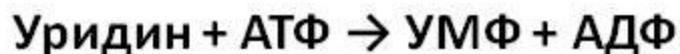
Причина: снижение активности **УМФ-синтазы**

Регуляция КАД-фермента по механизму ретроингибирования при этом нарушается, что приводит к гиперпродукции оротата .

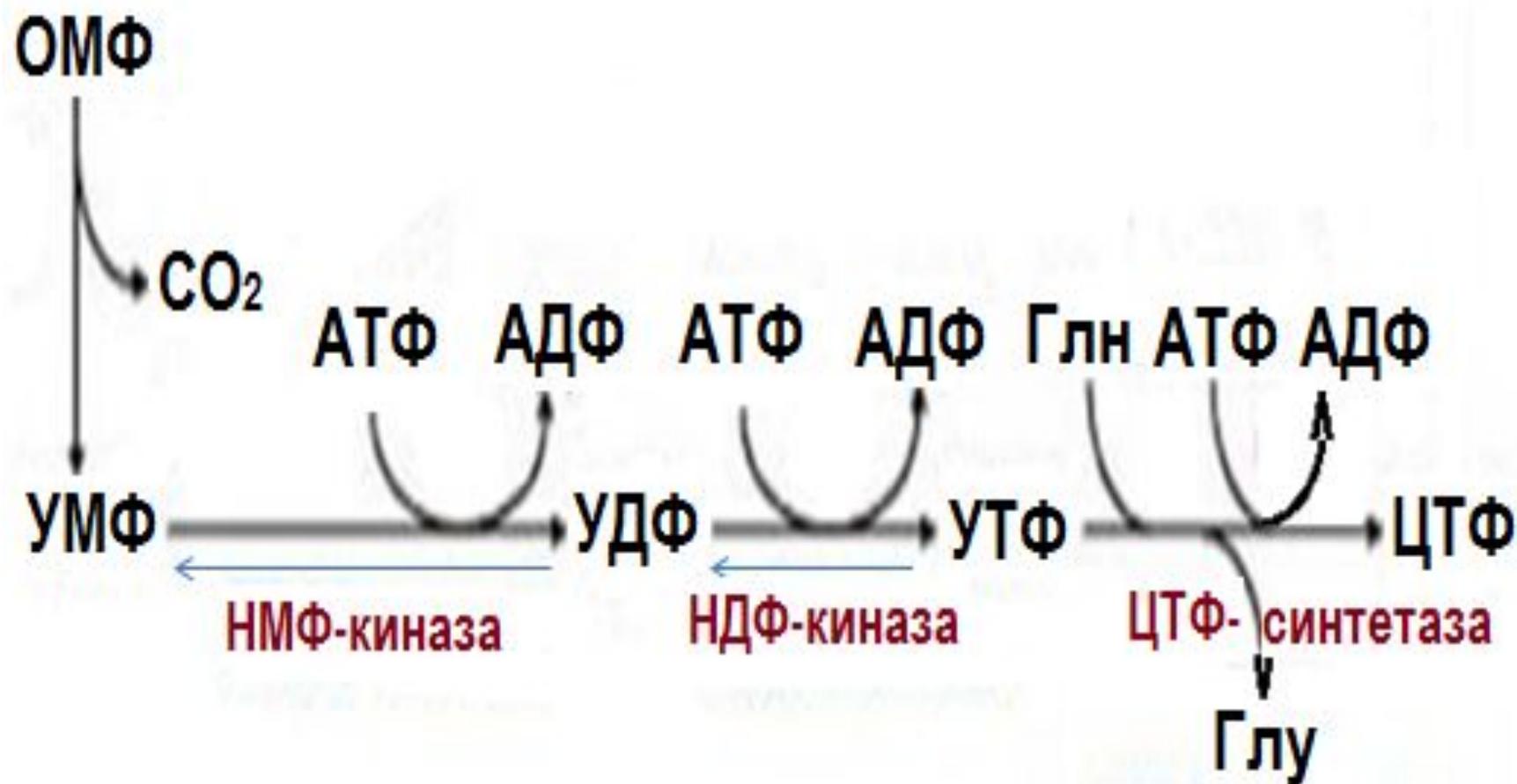
Гиперэкскреция оротовой кислоты сопровождается образованием камней. Оротовая кислота не токсична, нарушения в работе разных систем организма вызваны «пиримидиновым голодом» (мегалобластная анемия, снижение иммунитета, интеллектуального развития, двигательной способности, работы сердца, ЖКТ и т. д.)

Лечение: уридин от 0,5 – 1,0 г/сут (становится незаменимым компонентом пищи)

Уридин по «запасному пути» превращается в УМФ



Синтез пиримидиновых мононуклеотидов из общего предшественника



Синтез дезоксирибонуклеотидов происходит из рибонуклеозиддифосфатов путем восстановления рибозы в составе нуклеотида в дезоксирибозу. В этом процессе участвуют три белка:

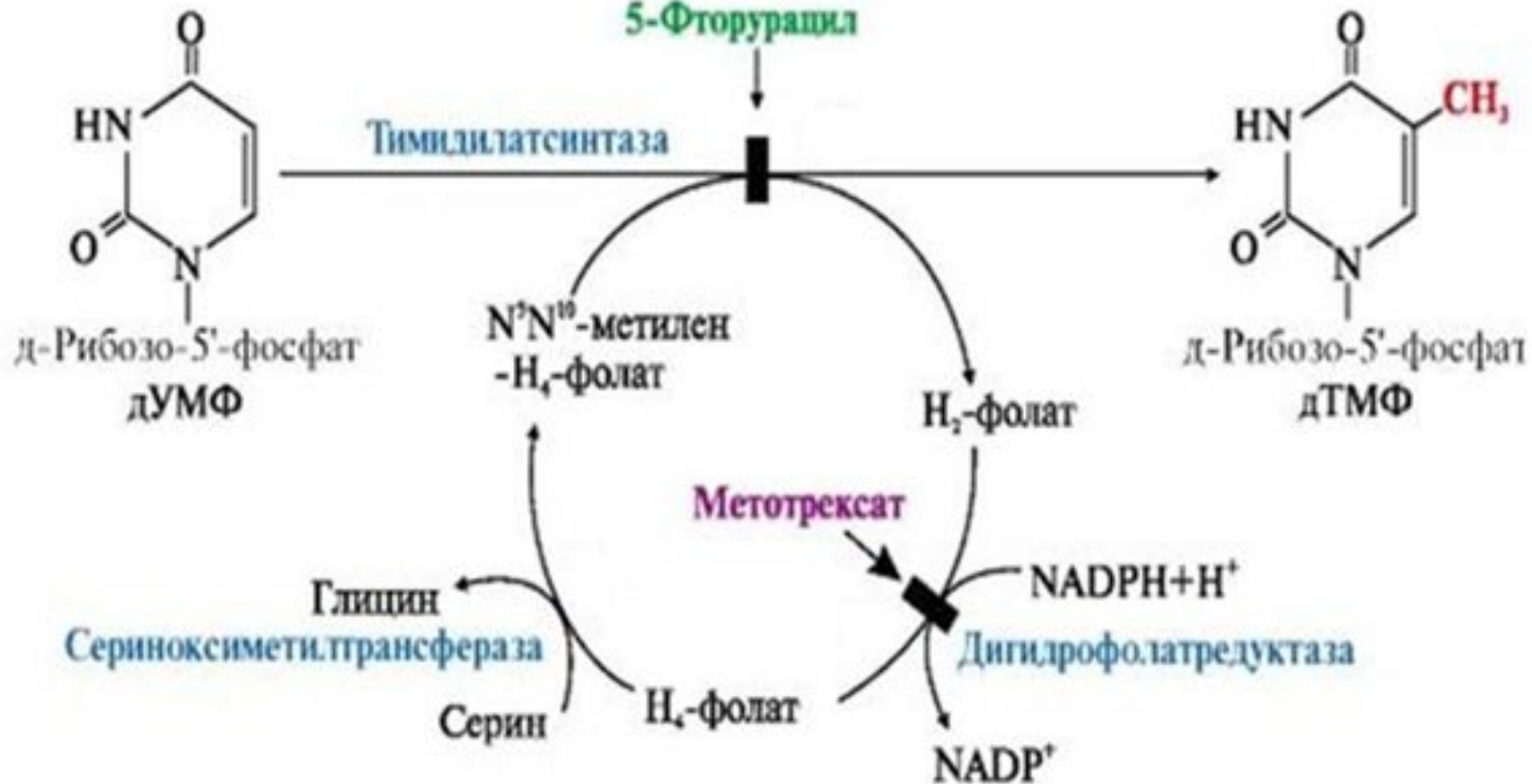
рибонуклеозидредуктаза — фермент, катализирующий восстановление рибозы в составе нуклеотида

тиоредоксин — донор водорода для восстановления кислорода рибозы в положении С—2

тиоредоксинредуктаза — фермент, восстанавливающий окисленный тиоредоксин за счет водорода NADPH



5-Фторурацил

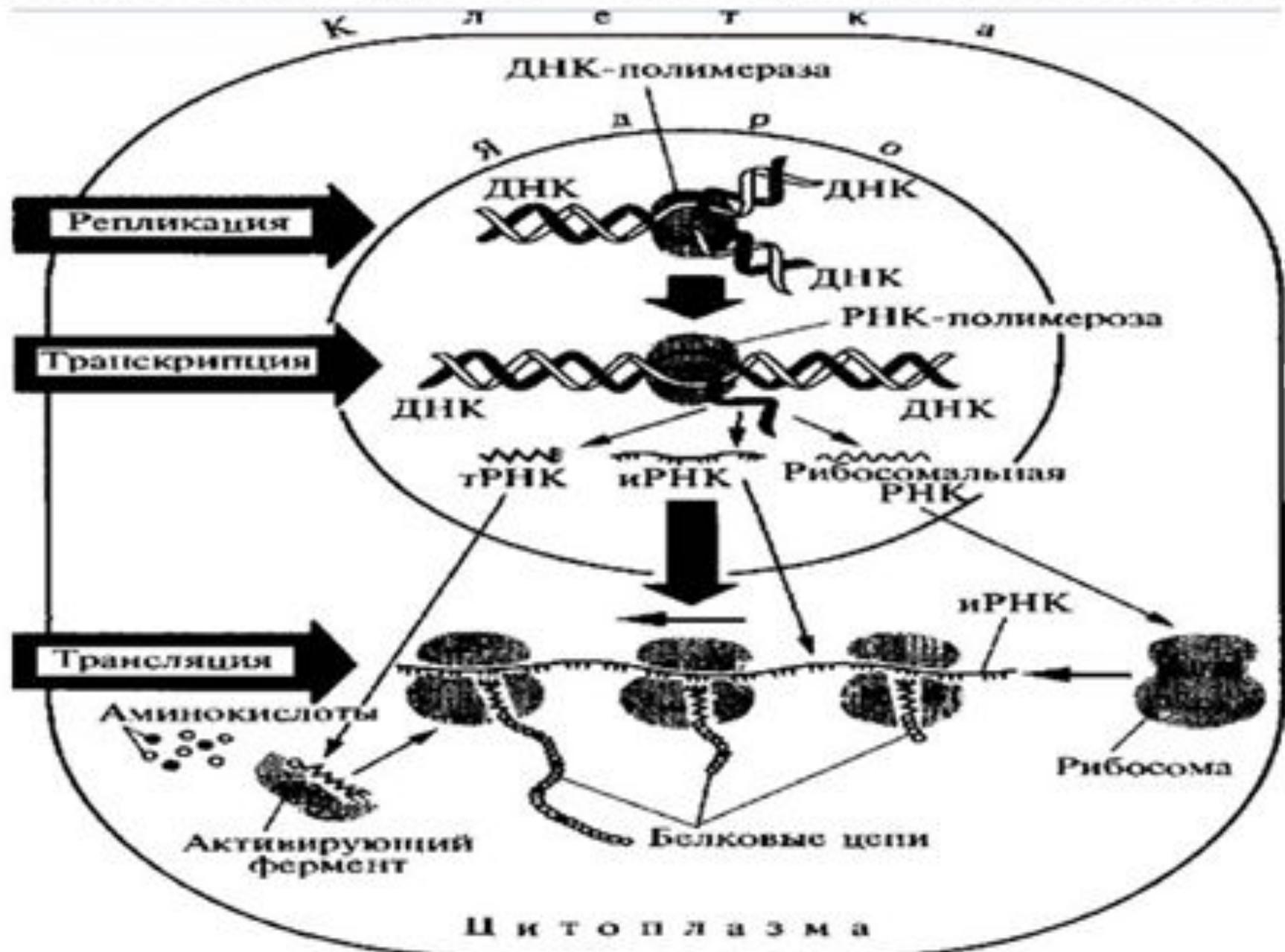


Препараты, часто используемые в лечении онкологических заболеваний, останавливают синтез дТМФ на стадиях превращения дУМФ в дТМФ и восстановления H₂-фолата (ДГФК) в H₄-фолат (ТГФК)

Действие ингибиторов репликации

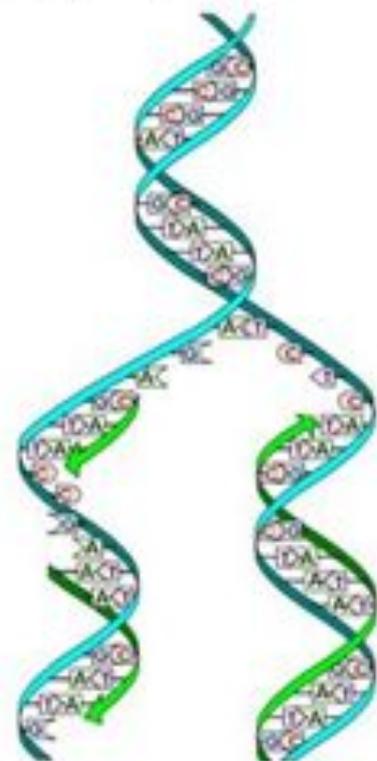
Препарат	Механизм действия	Область применения
Фторурацил	Превращается в рибо- и дезоксирибонуклеотиды, которые ингибируют тимидилатсинтазу и рост цепей РНК	Лечение солидных опухолей желудка, желудочно-кишечного тракта, молочной железы, лёгких и др.
Метотрексат	Структурный аналог фолиевой кислоты, ингибирует дигидрофолатредуктазу, нарушает синтез пуриновых нуклеотидов и превращение дУМФ в дТМФ	Химиотерапия опухолей
Ацикловир (ациклогуанозин)	Превращается в соответствующий НТФ и ингибирует синтез вирусной ДНК	Лечение герпетических инфекций
Азидотимидин (АЗТ)	Фосфорилируется с образованием АЗТ-ТФ и блокирует репликацию вируса иммунодефицита	Лечение СПИДа

Центральная «догма» молекулярной биологии



Репликация

- Матрица: цепь ДНК
- Субстраты: дАТФ, дГТФ, дЦТФ, дТТФ
- Ферменты: ДНК-полимеразы (α , β , γ , δ , ϵ):
 - α - инициирует синтез новой цепи (РНК-праймаза)
 - β - участвует в репарации ДНК
 - γ - синтез митохондриальной ДНК
 - δ - может синтезировать отстающую цепь
 - ϵ - элонгирует ведущую цепь



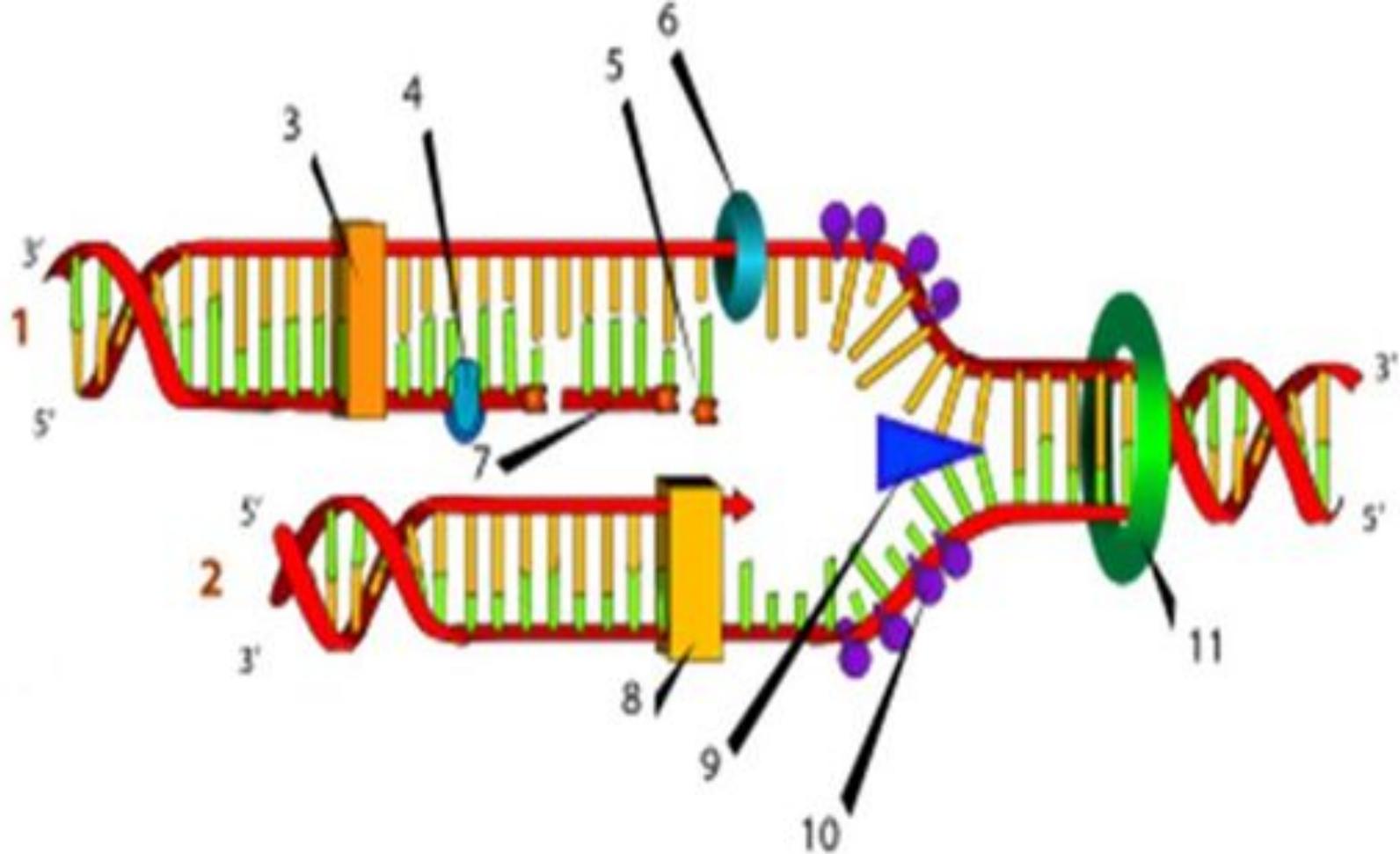


Схема процесса репликации

1- запаздывающая нить, 2 – лидирующая нить, 3 – ДНК-полимераза (δ),
 4 – ДНК-лигаза, 5 – РНК-праймер, 6 – праймаза, 7 – фрагмент
 Оказаки, 8 - ДНК-полимераза (ϵ), 9 – хеликаза, 10 – одиночная нить со
 связанными белками. 11 - топоизомераза

Транскрипция

- Матрица: цепь ДНК
- Субстраты: АТФ, ГТФ, ЦТФ, УТФ
- Ферменты: РНК-полимеразы (I, II, III)
- I – участвует в синтезе рРНК
- II - участвует в синтезе мРНК
- III - участвует в синтезе тРНК

Транскрипция

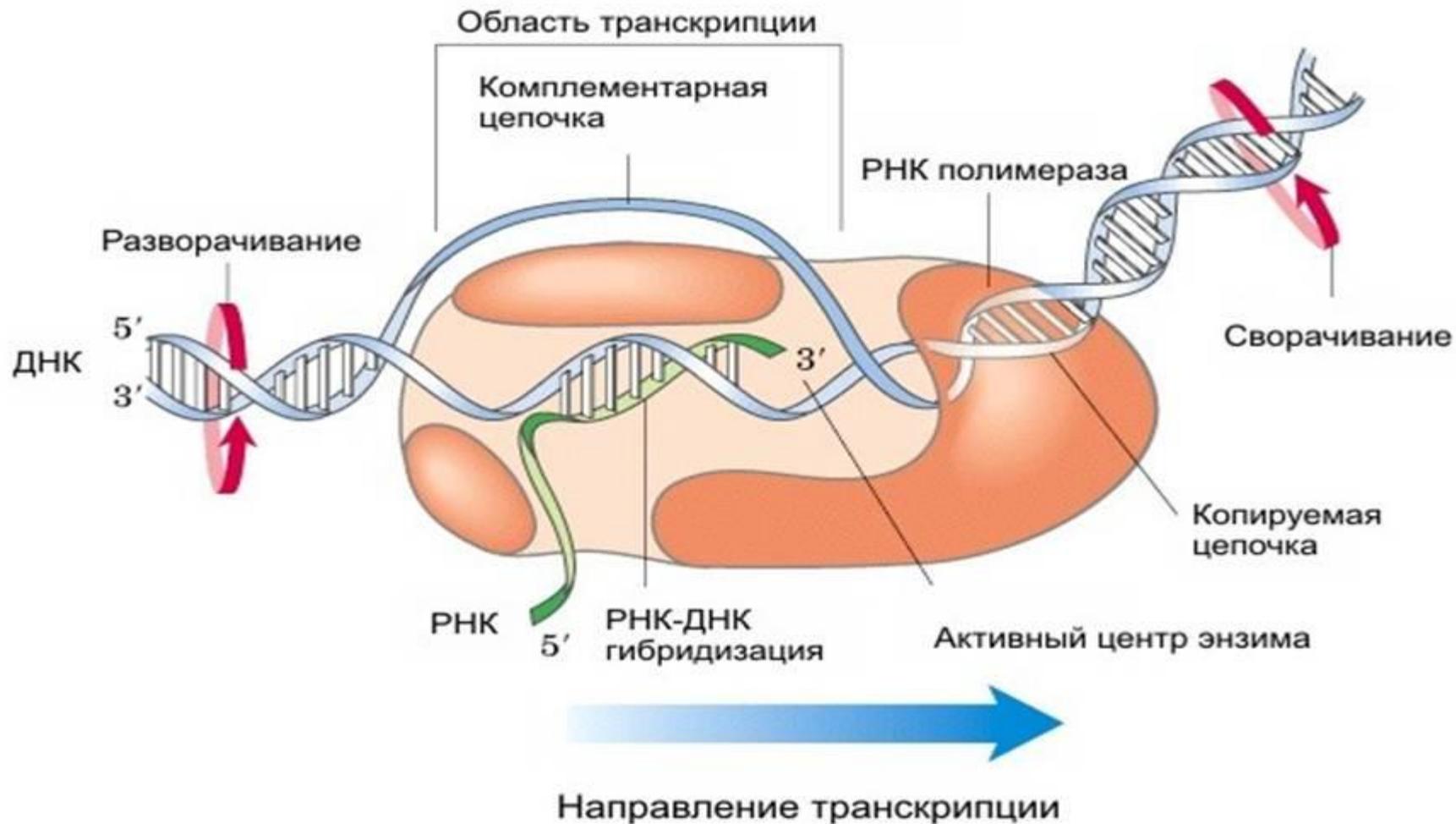


Схема сплайсинга, в процессе которого пре-мРНК созревает в зрелую РНК.

Зелёный — нетранслируемые участки (UnTranslated Regions, UTR), **синий** — интроны, **красный** — транслируемые (кодирующие белок) участки

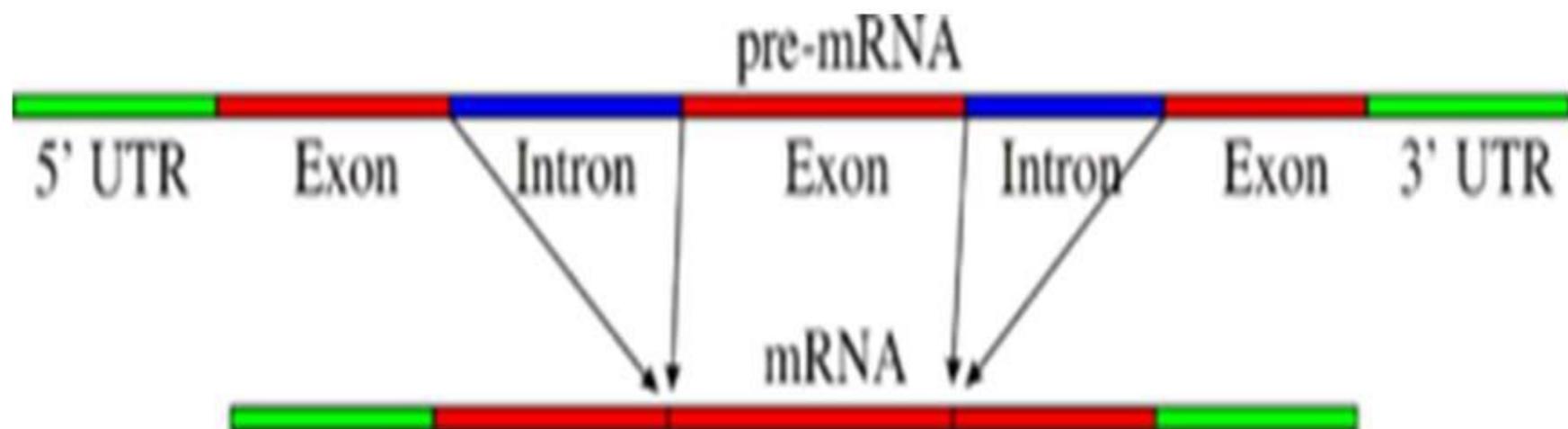


Схема альтернативного сплайсинга

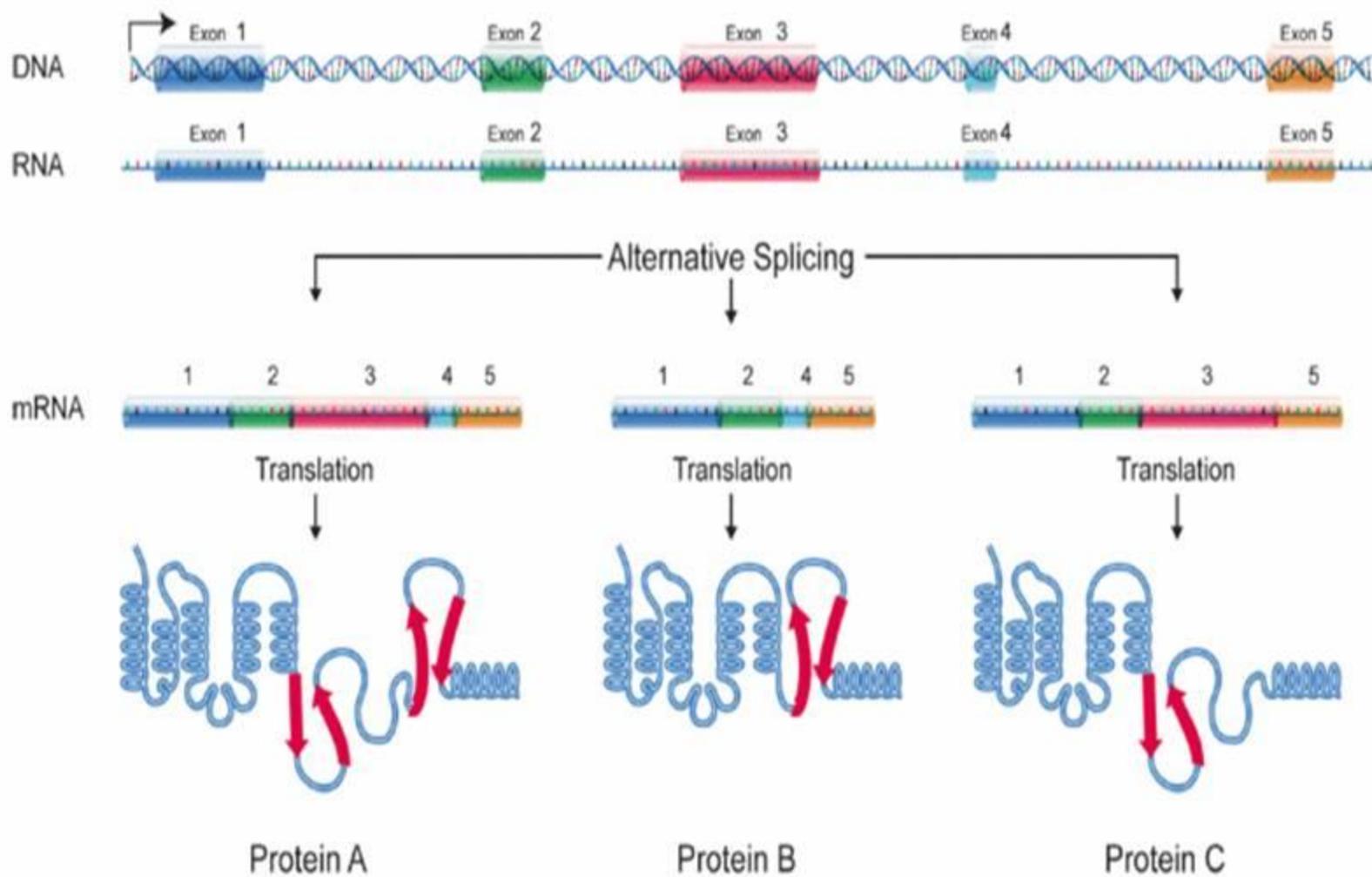
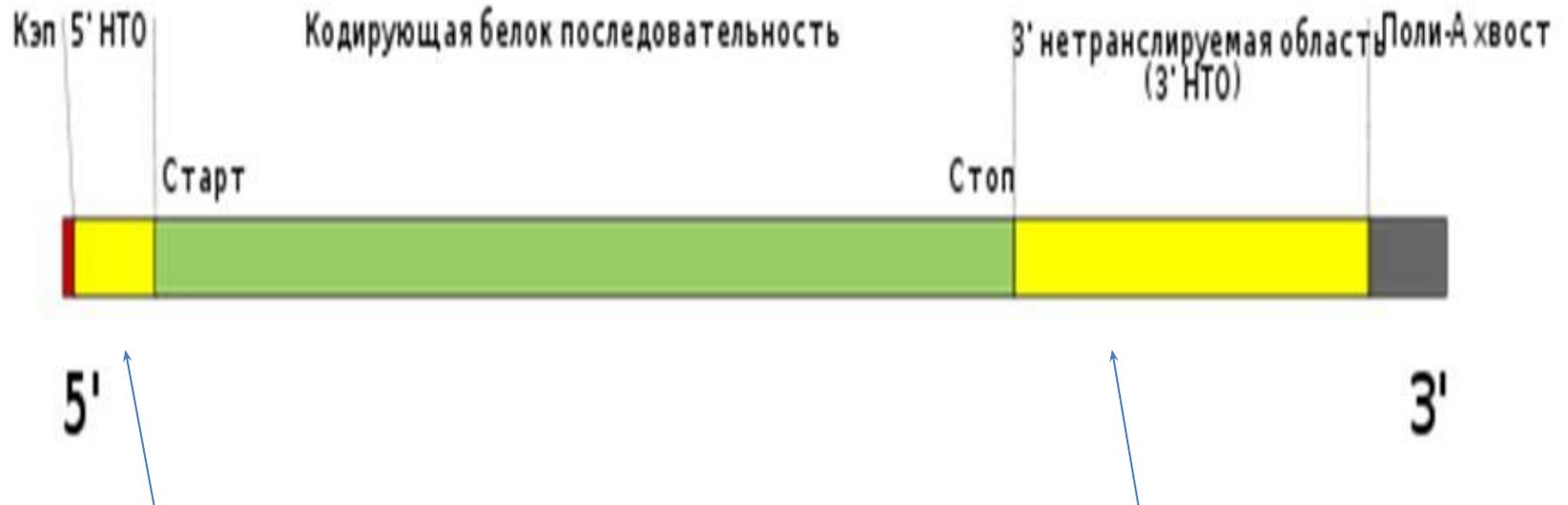
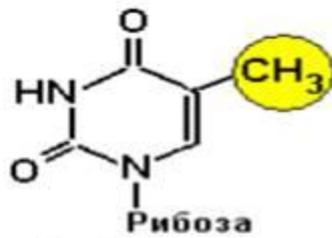


Схема строения зрелой мРНК

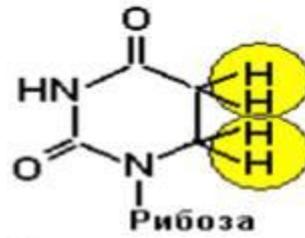


Нетранслируемые области РНК содержат участки, которые регулируют белковый синтез

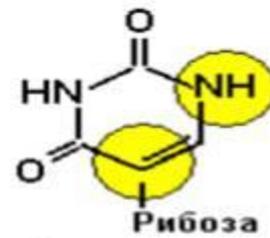
Минорные азотистые основания



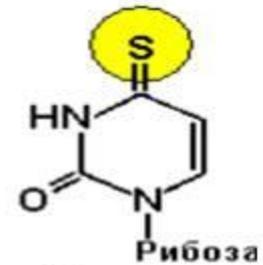
Риботимидин



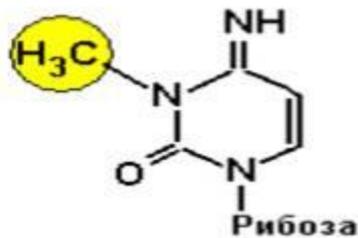
Дигидроуридин



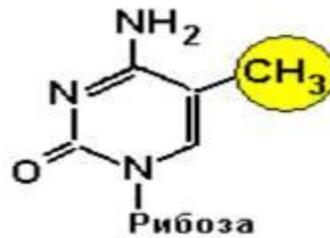
Псевдоуридин



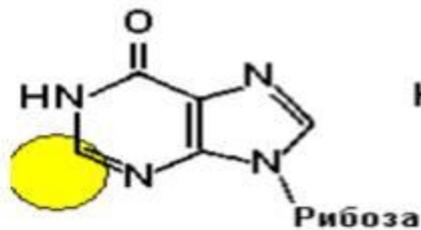
4-Тиоуридин



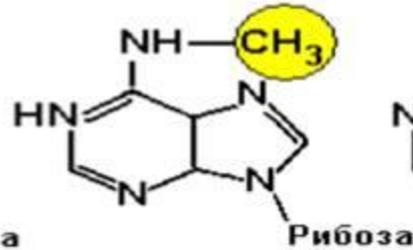
3-Метилцитидин



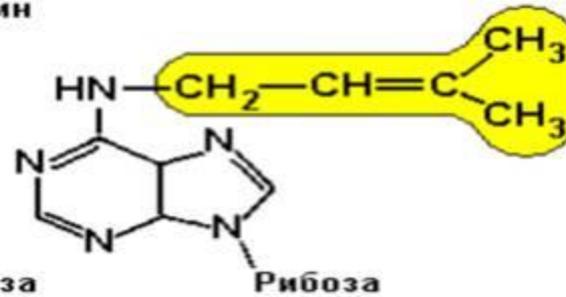
5-Метилцитидин



Инозин



N⁶-метиладенозин



N⁶-изопентиладенозин

Спасибо за внимание!

