



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

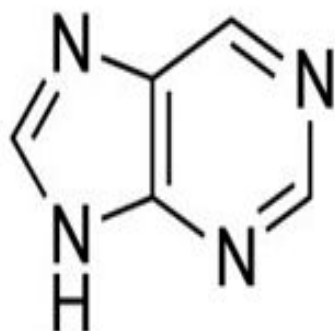
НДФ

НТФ

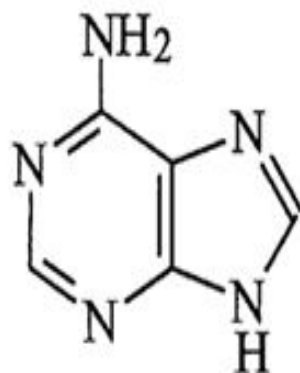
моноклеотиды

# Азотистые основания

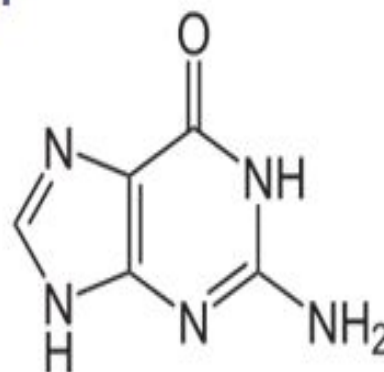
## ПУРИНЫ



**ПУРИН**

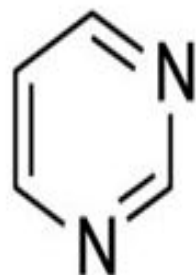


**аденин**

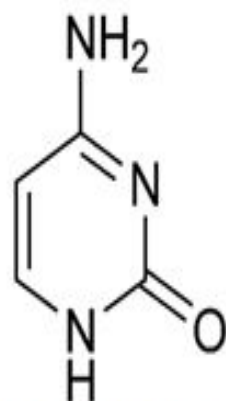


**гуанин**

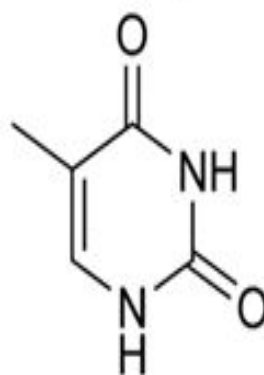
## ПИРИМИДИНЫ



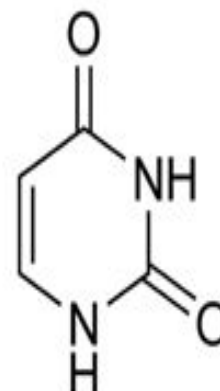
**ПИРИМИДИН**



**цитозин**

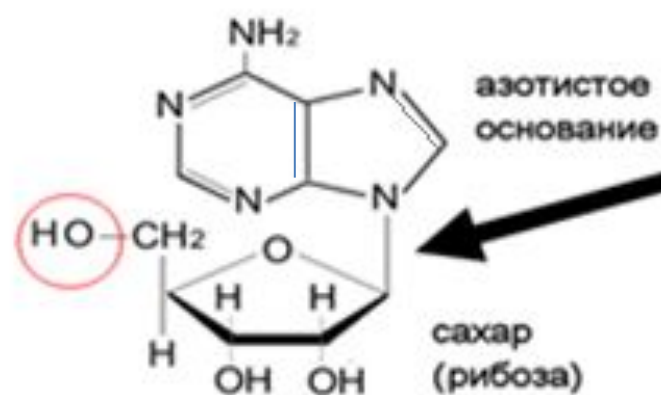


**тимин**

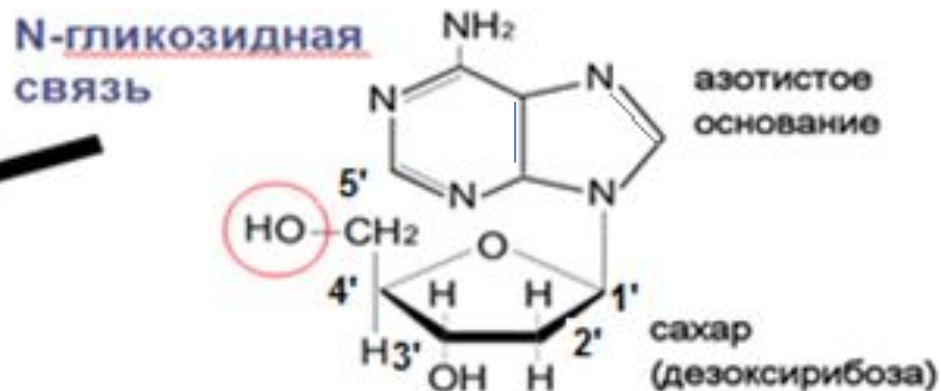


**урацил**

# Нуклеозиды

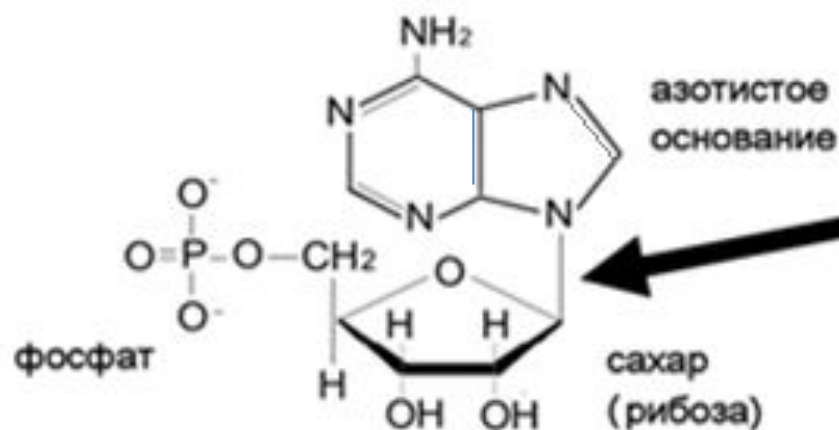


рибонуклеозид

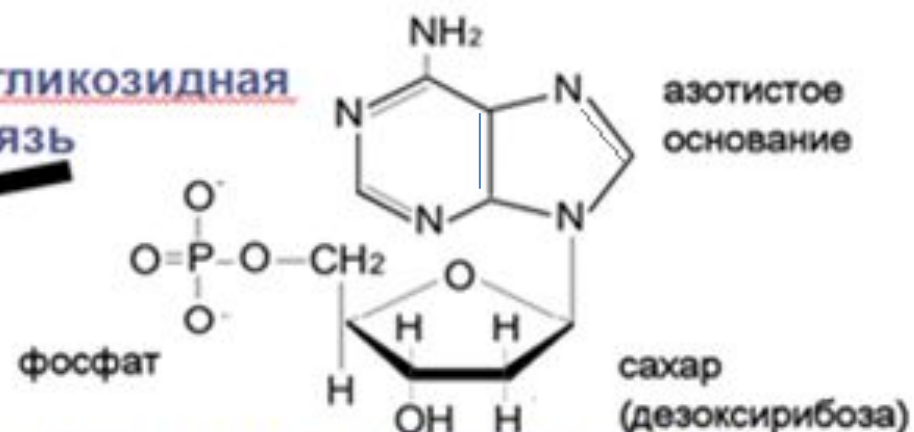


дезоксирибонуклеозид

# Нуклеотиды



рибонуклеотид



дезоксирибонуклеотид

**РНК**

Азотистое  
основание  
(А, Г, Ц, У)

Углевод –  
рибоза

Остаток  
ФК

**ДНК**

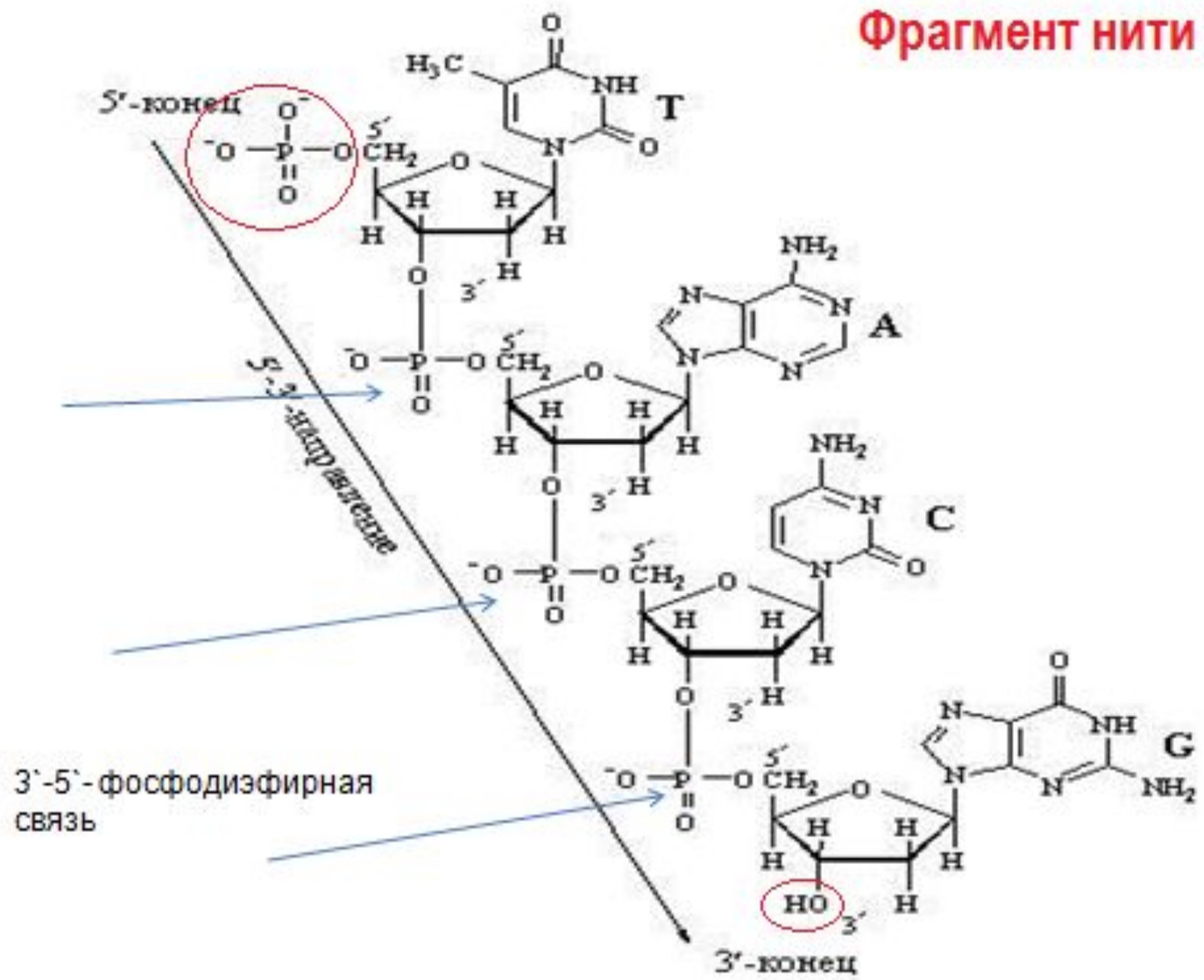
Азотистое  
Основание  
(А, Г, Ц, Т)

Углевод –  
дезоксирибоза

Остаток  
ФК



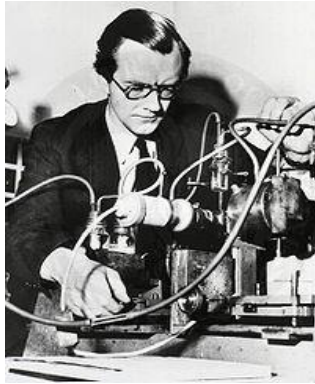
# Фрагмент нити ДНК



# Модель Уотсона и Крика

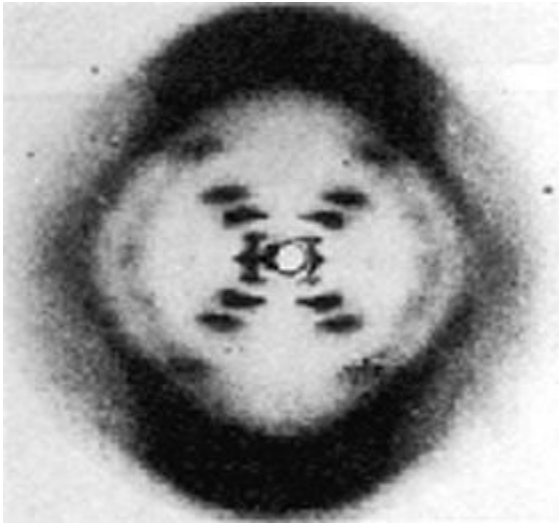


Розалинд Франклин  
(1920-1958)

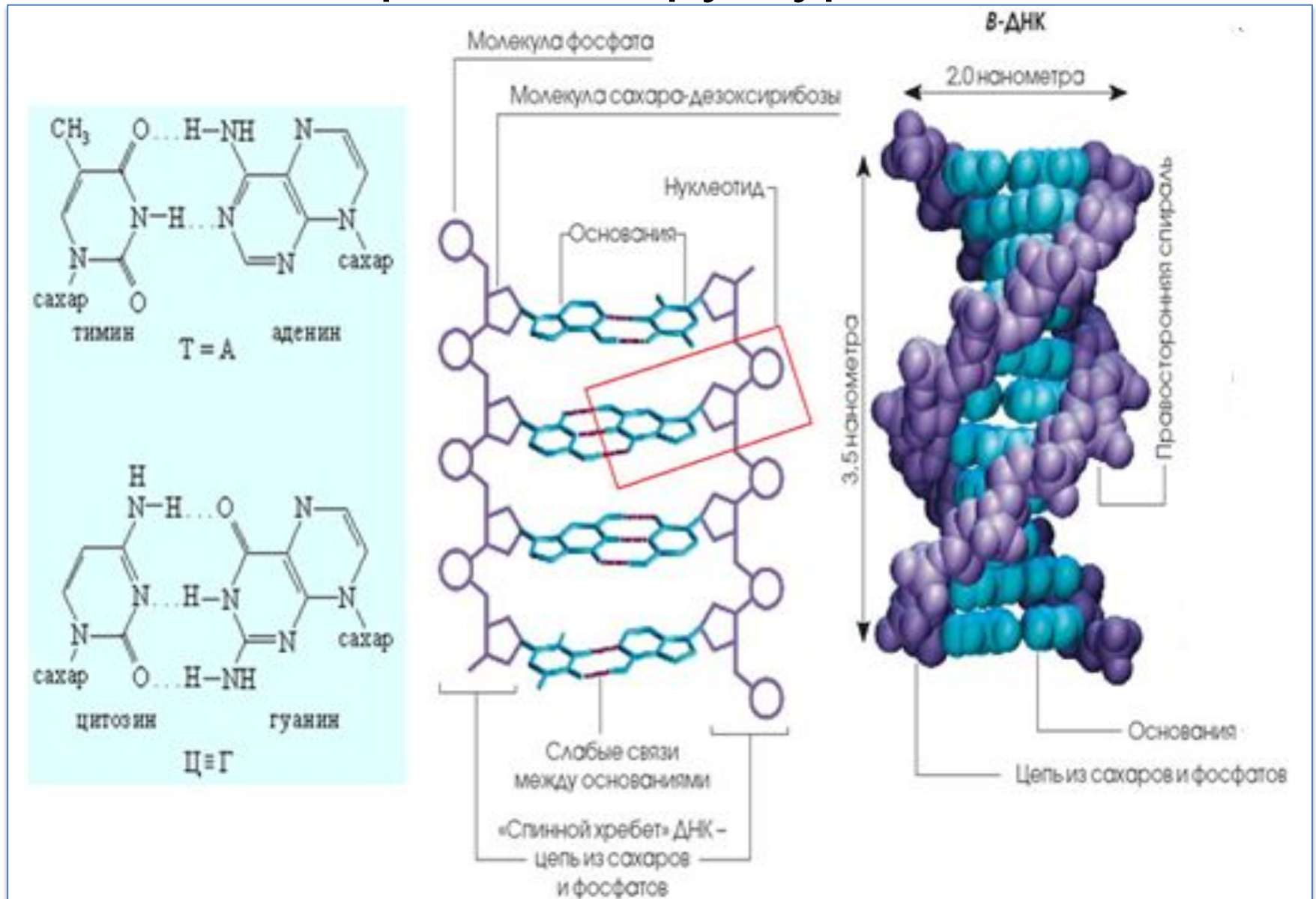


Моррис Уилкинс  
(1916-2004)

- 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

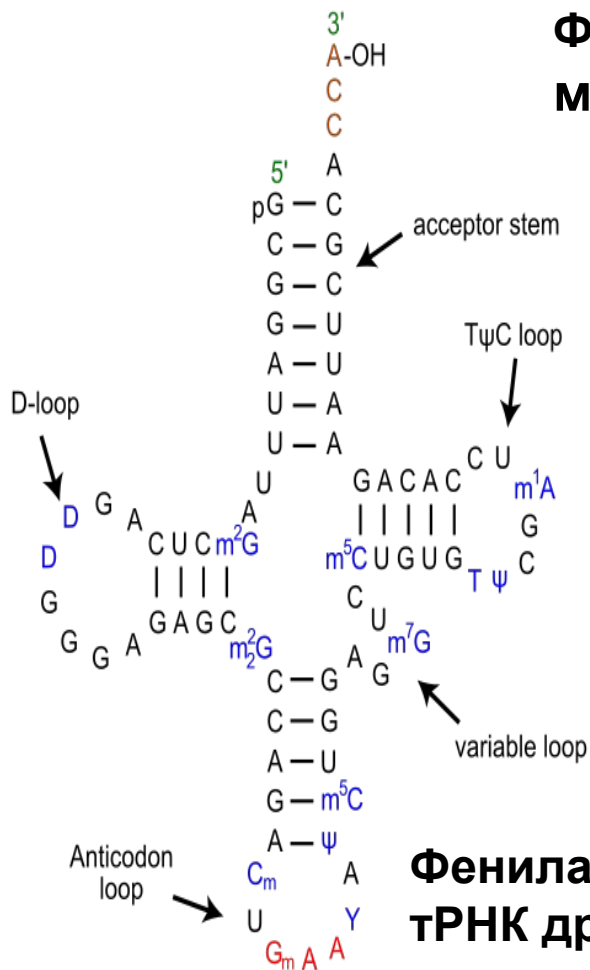
- Рибонуклеотиды
- Урацил вместо Тимина
- Одноцепочечные молекулы
- Содержание варьирует

# Транспортная РНК

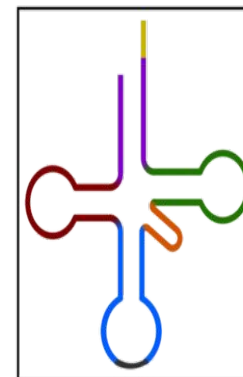
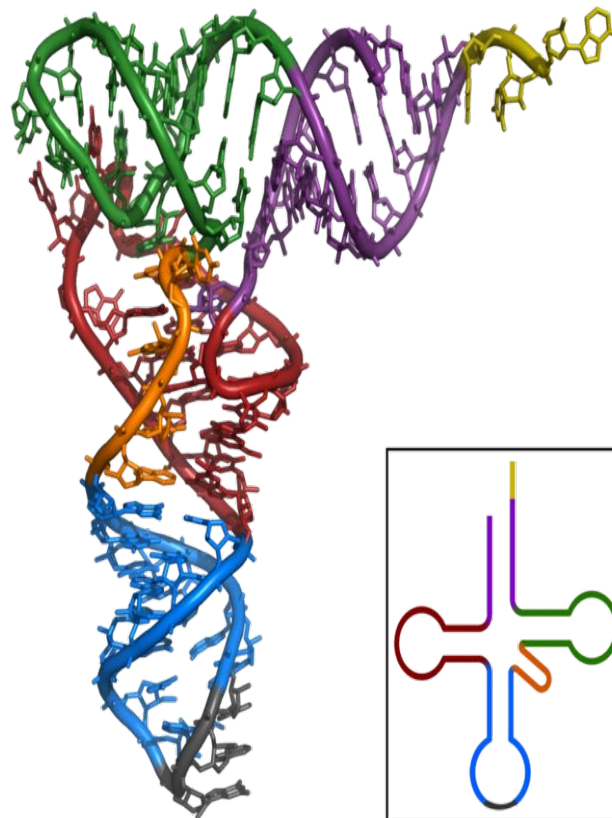
Транспортная (т-РНК) 80-100 нуклеотидов

•10% всей РНК клетки

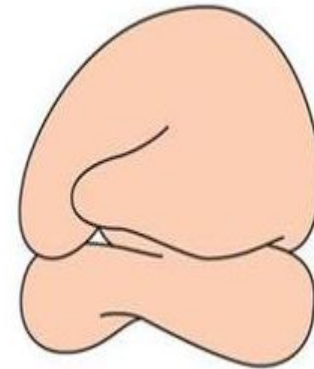
Функция: перенос аминокислоты к месту синтеза



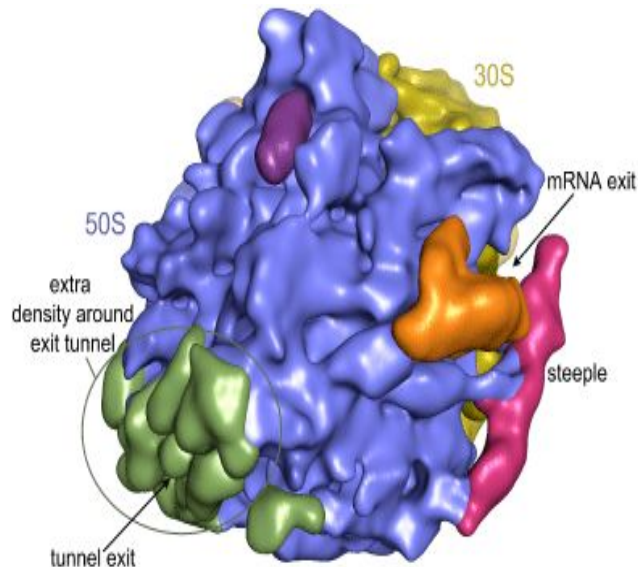
Фенилаланиновая  
тРНК дрожжей



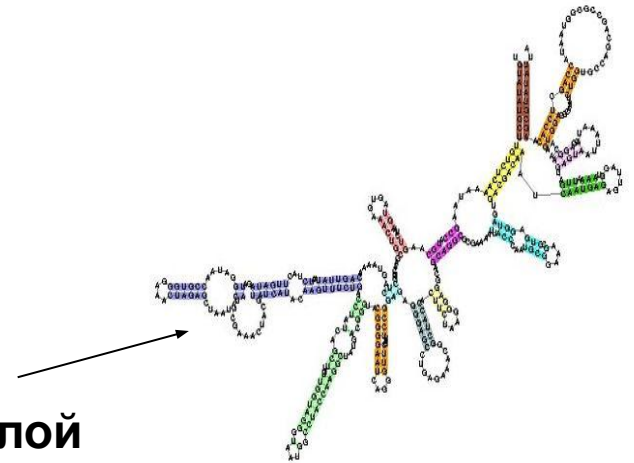
# Рибосомная РНК



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



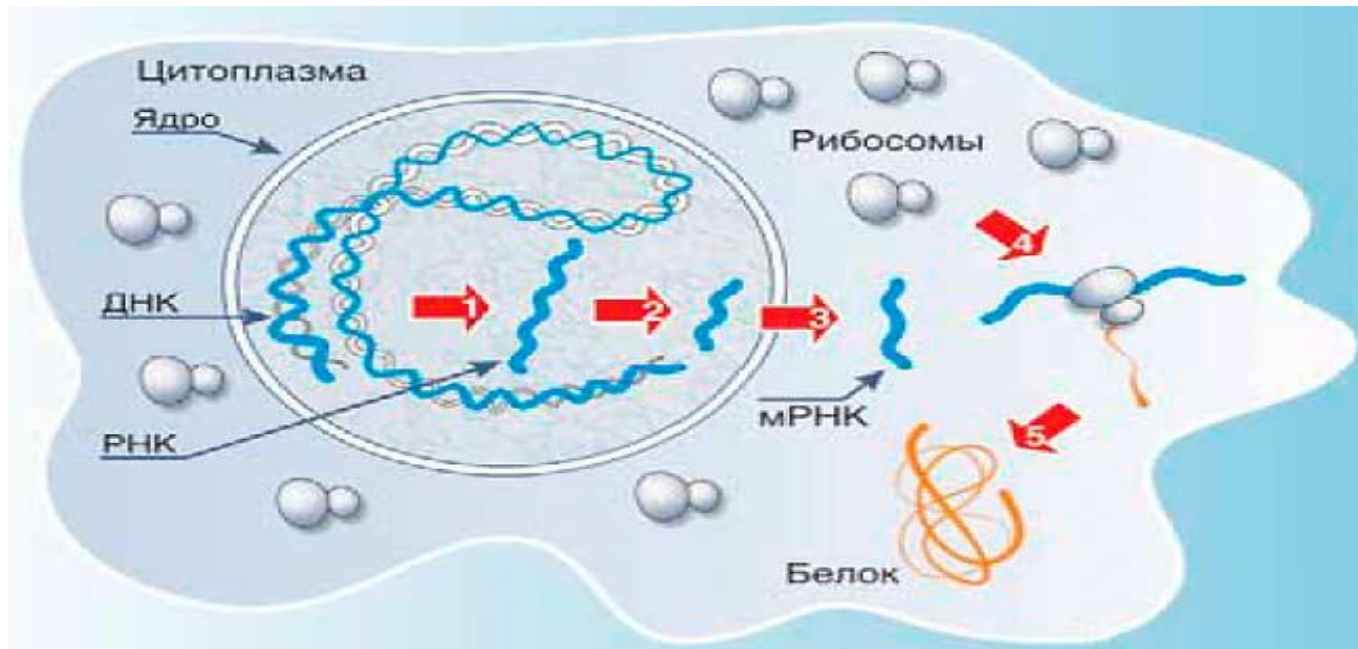
рРНК малой субъединицы рибосомы





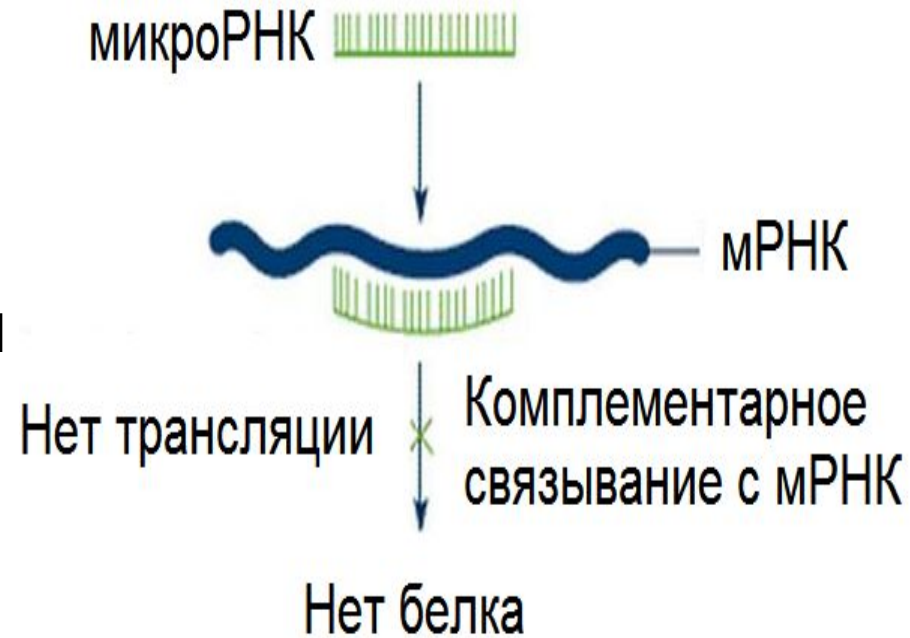
# Информационная РНК

- 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: **ATGCCCGGGTTTAATGCGTCAGTGACTGCACA...**

количество генов - 35000:  
цитогенетическая карта:



физическая карта:



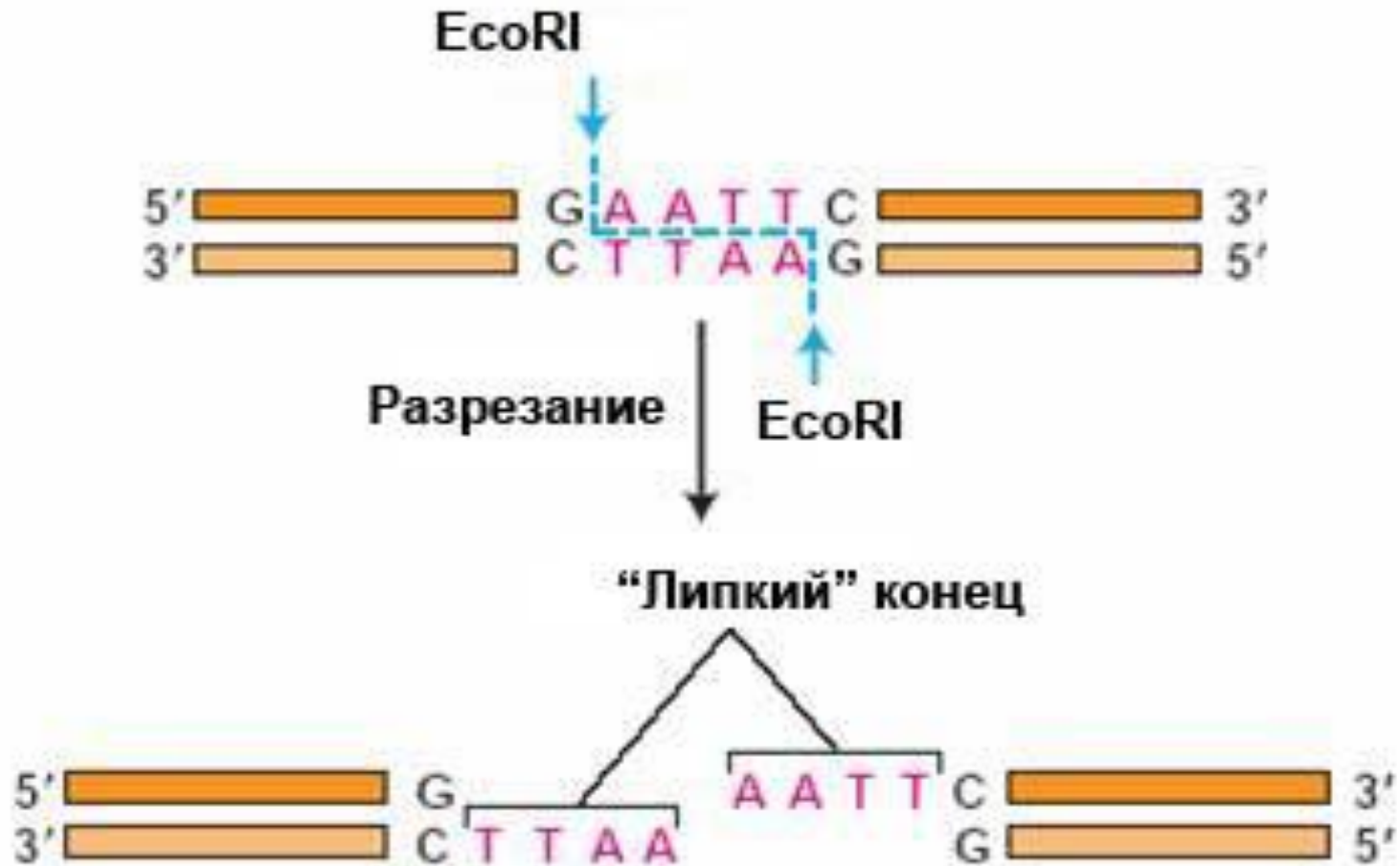
Локализация генов



Локализация мутаций

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

# Схема расщепления ДНК рестриктазой EcoRI



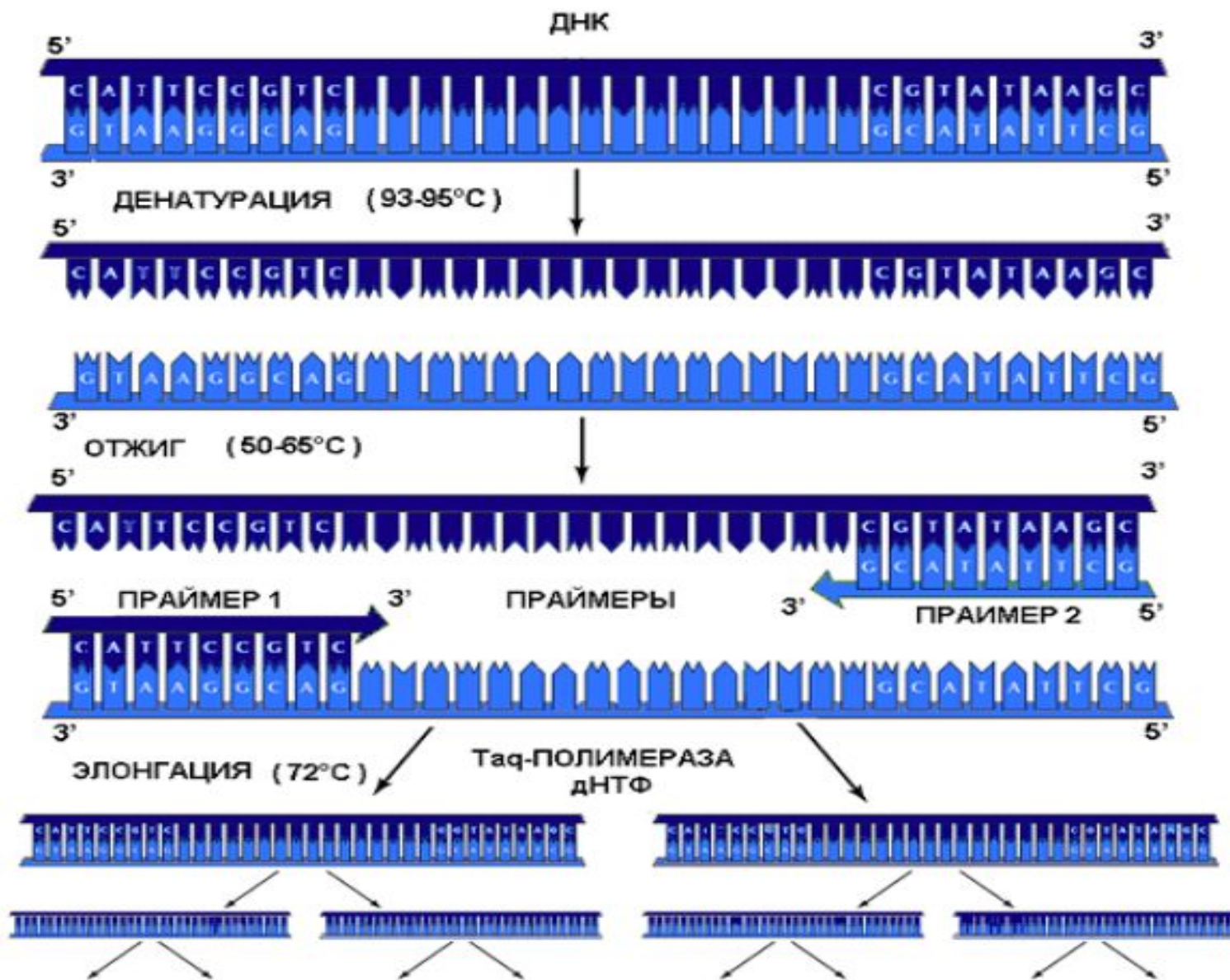
# Полимеразная цепная реакция и ее применение в медицине

- 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

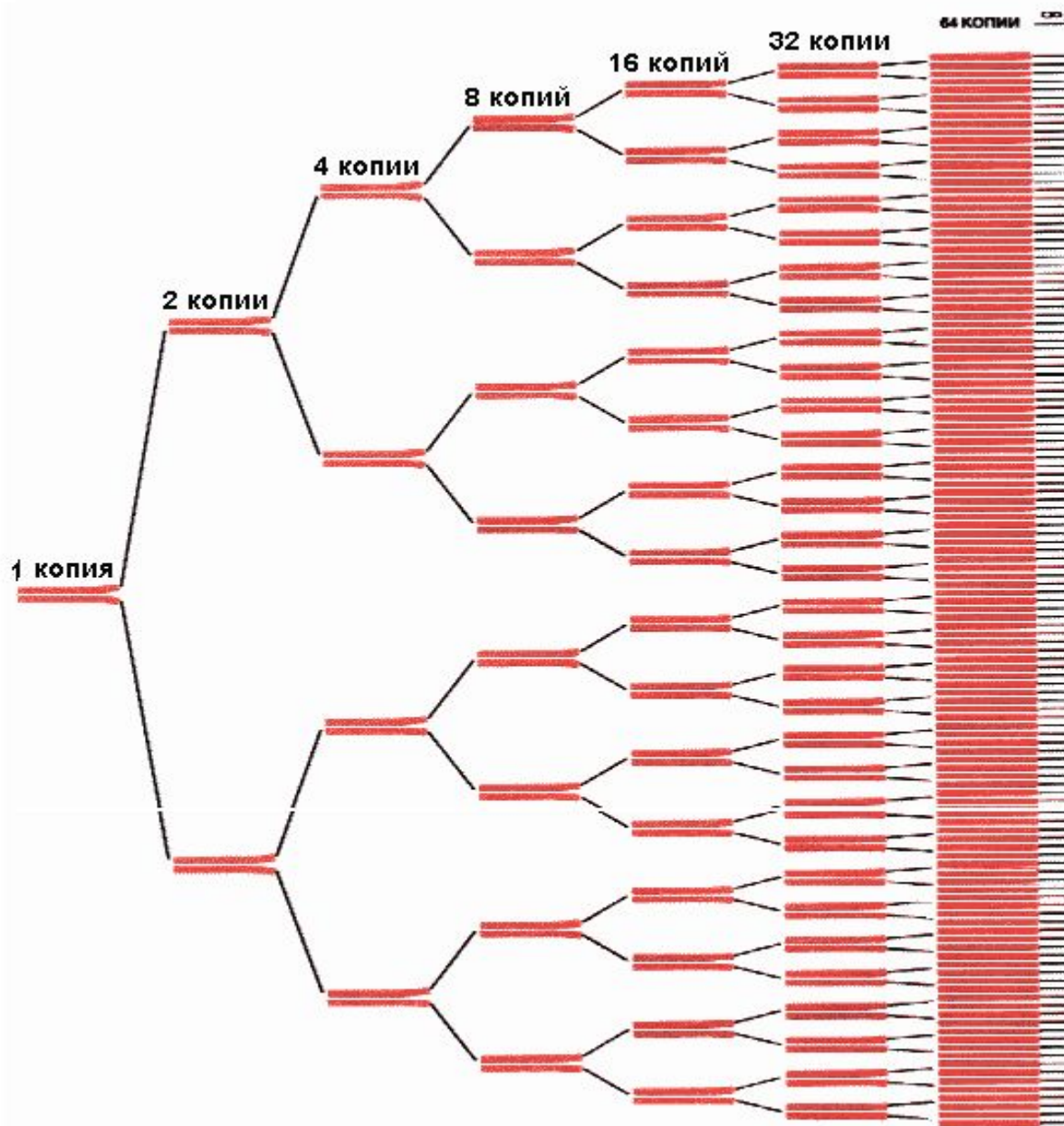


амплификатор ↗

# ПЦР-анализ





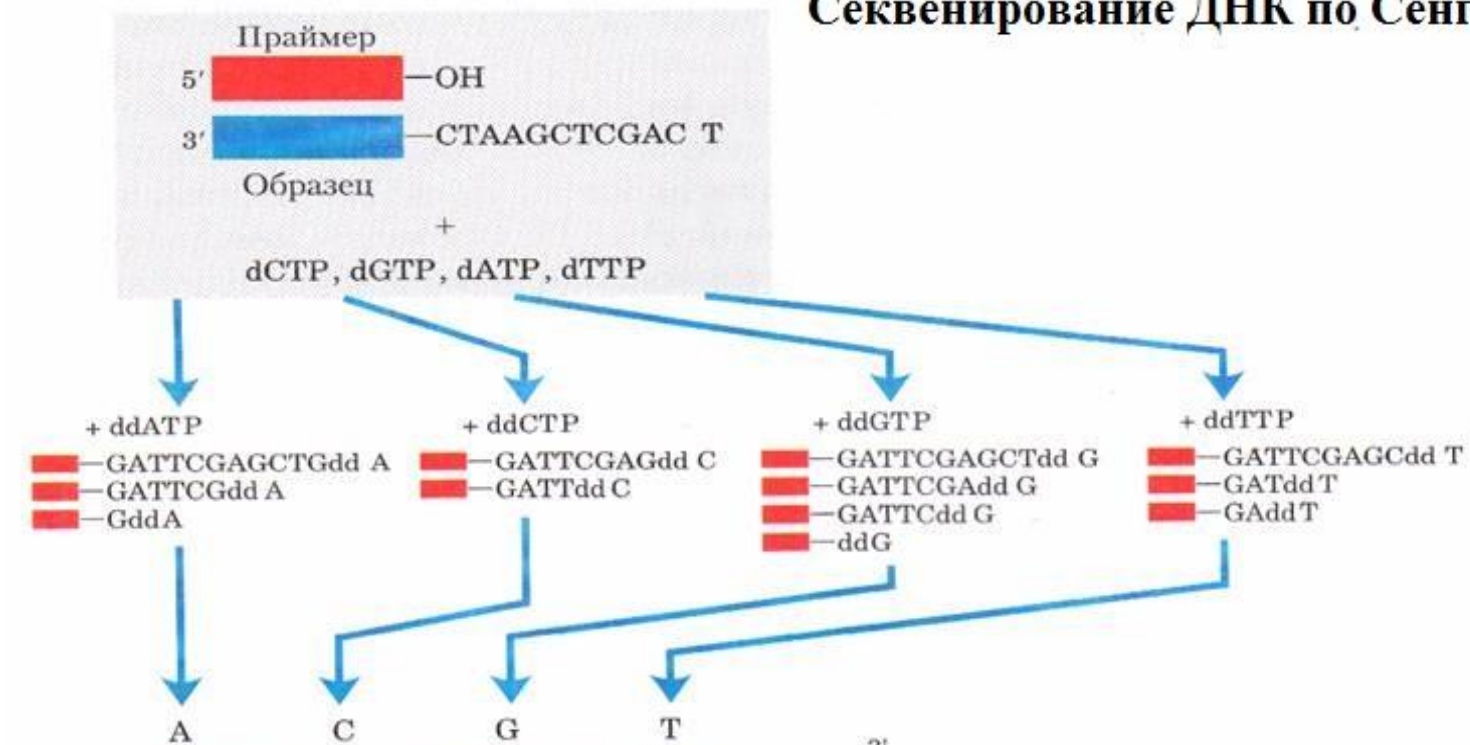


**ПОЛИМЕРАЗНАЯ ЦЕПНАЯ РЕАКЦИЯ** - это простой лабораторный метод копирования фрагмента ДНК с использованием легко доступных реактивов. Поскольку число копий возрастает экспоненциально, всего за несколько часов можно получить более 100 млрд. копий.

# Секвенирование

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

# Секвенирование ДНК по Сенгеру

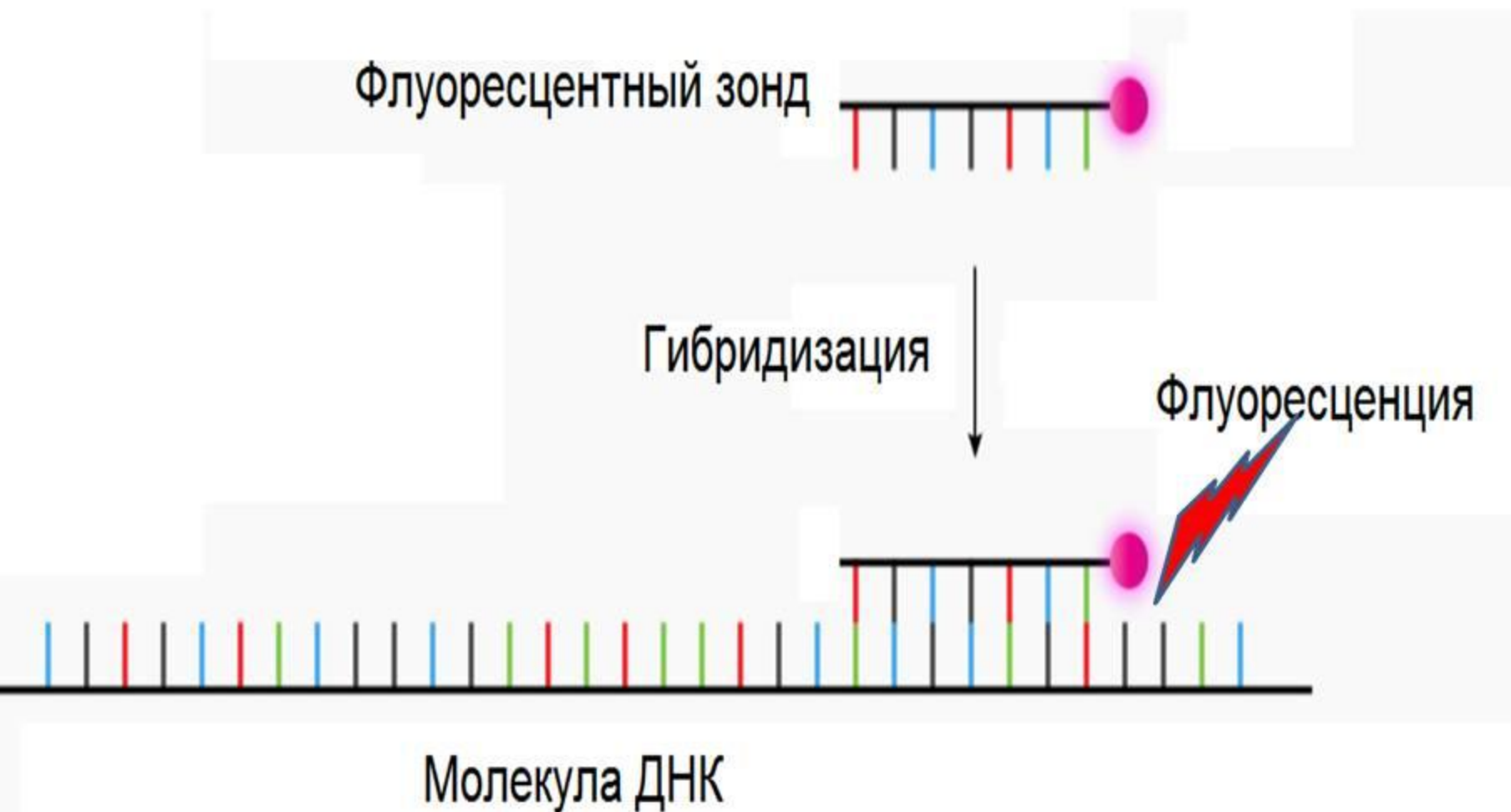


Авторадиограмма электрофоретического геля

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<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>, Ca<sup>2+</sup>

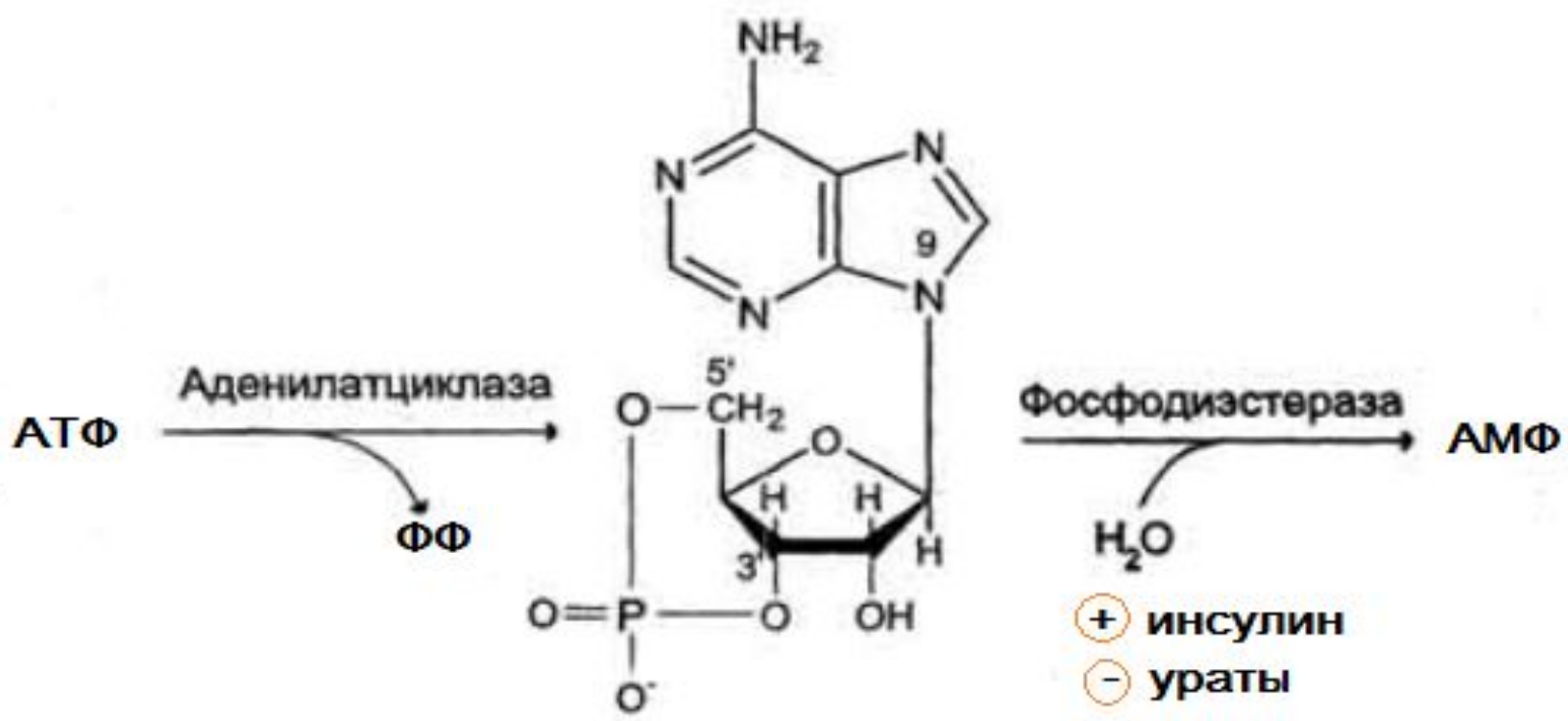
### Семейство P2Y

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

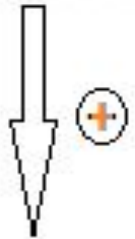
**Лиганды:** АТФ, АДФ, УТФ, УДФ

**Локализация:** клетки

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

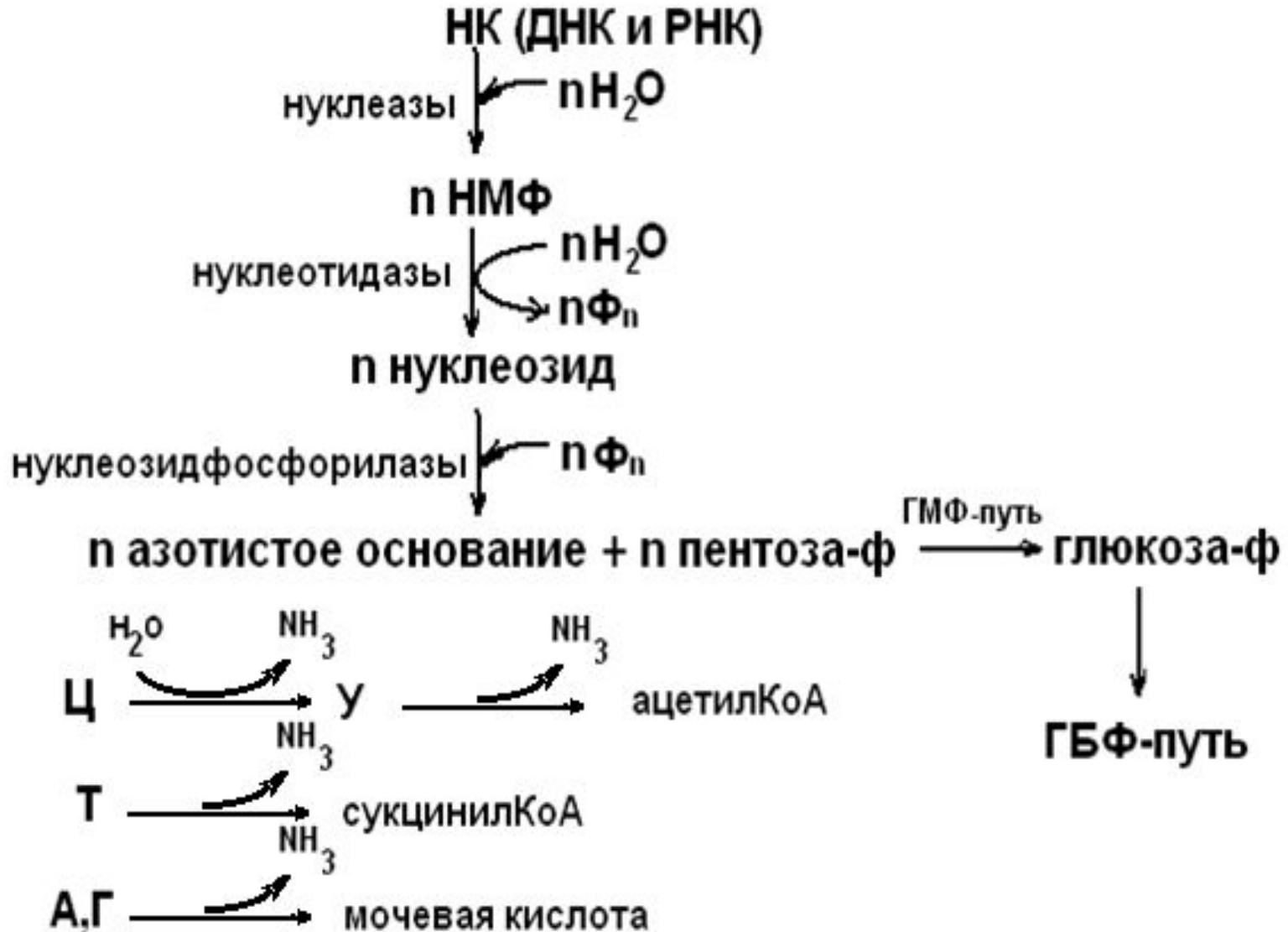


Циклический аденозин-3', 5'-монофосфат (цАМФ)



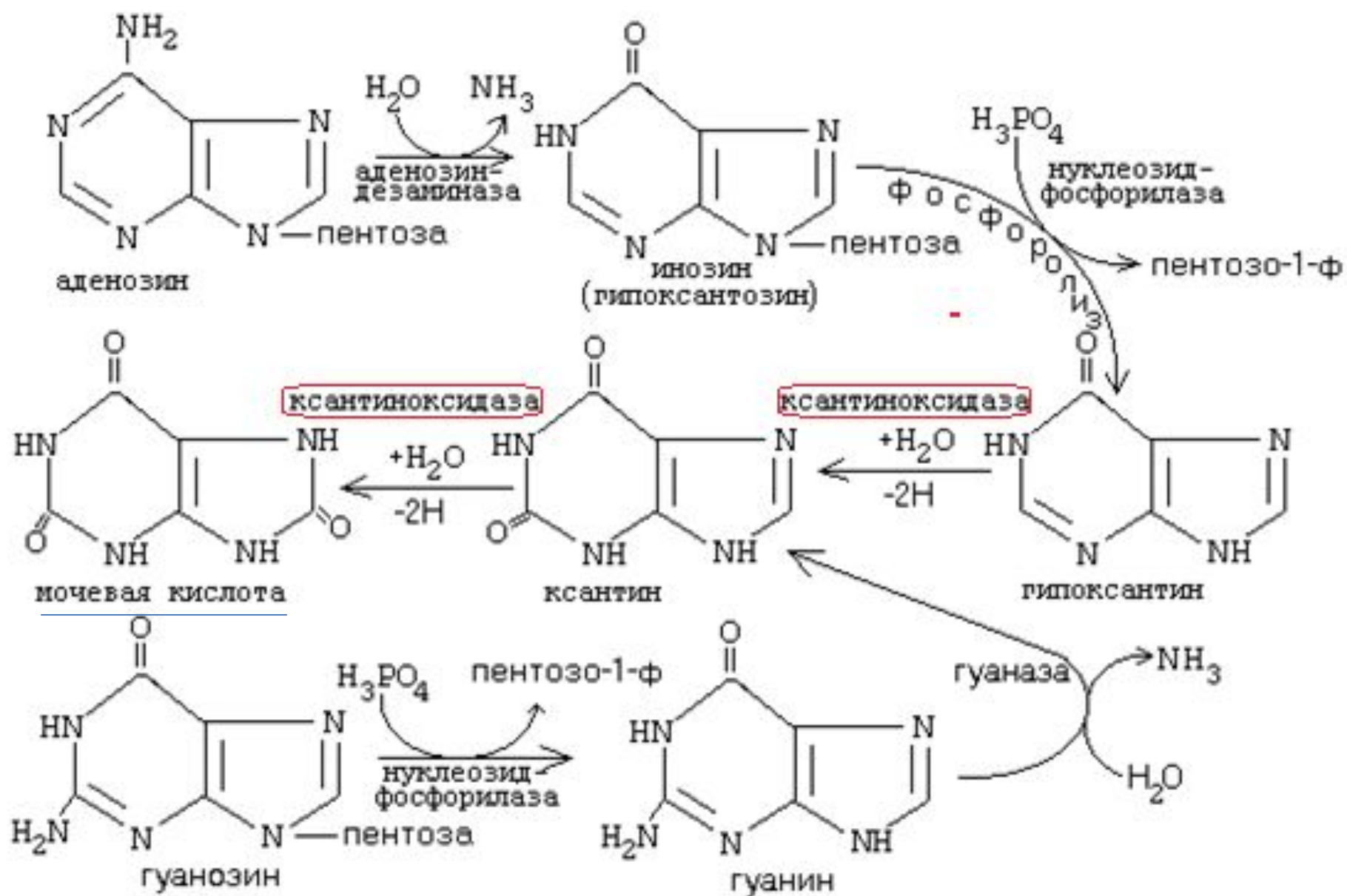
Протеинкиназа А

# Схема катаболизма нуклеиновых кислот





# Катаболизм пуриновых нуклеозидов

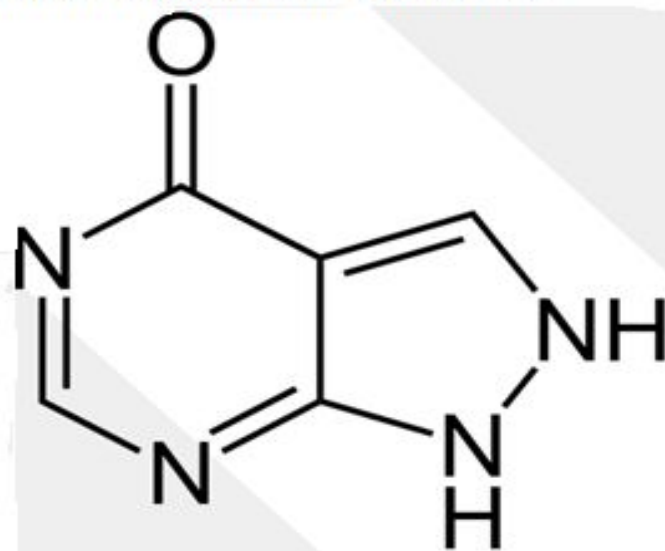


# Факторы развития подагры

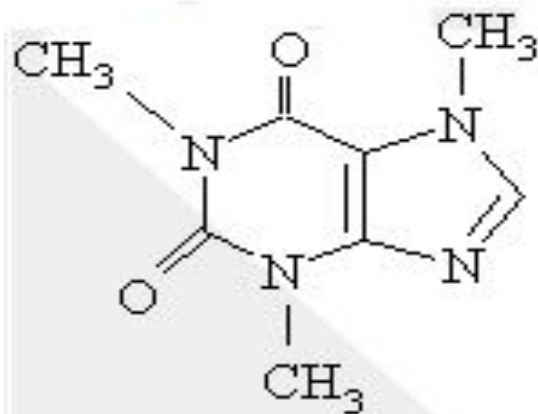
- **Наследственная предрасположенность;**
- **к факторам риска развития подагры относят артериальную гипертонию, гиперлипидемию;**
- **повышенное поступление в организм пуриновых оснований, например, при употреблении большого количества красного мяса (особенно субпродуктов), некоторых сортов рыбы, кофе, 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.**



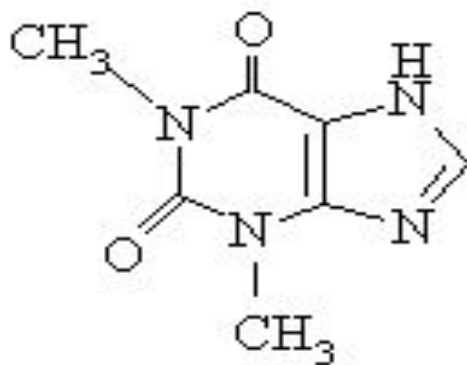
аллопуринол -  
ингибитор ксантинооксидазы



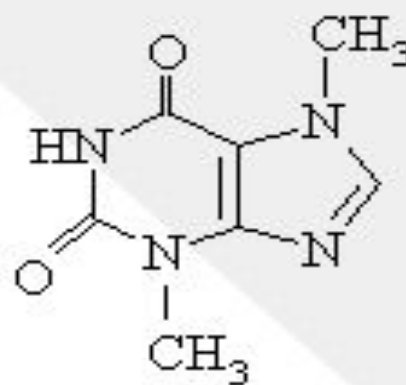
растительные алкалоиды - стимуляторы ЦНС



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

CO<sub>2</sub>

# 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:

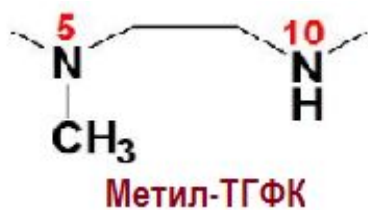
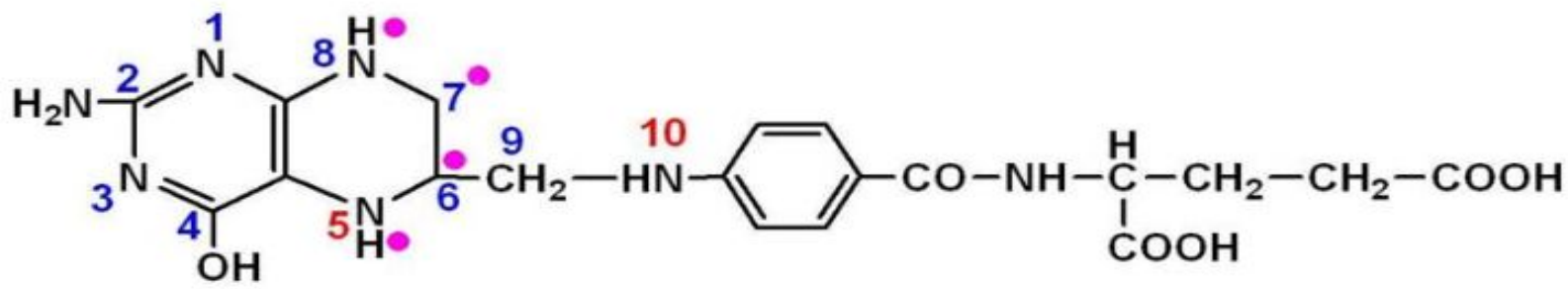
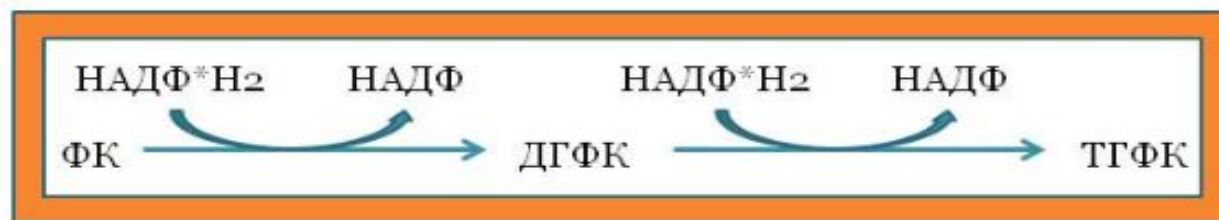
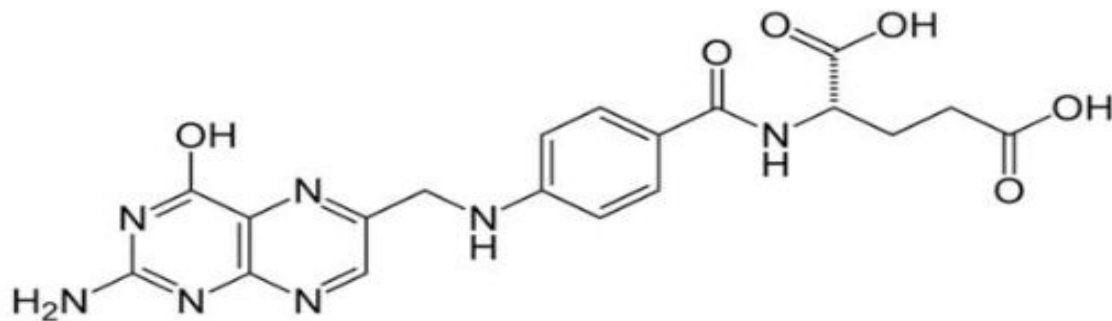
Сер, Гли

Встраиваются всей молекулой в циклическое ядро азотистого основания:

Гли в пуриновое

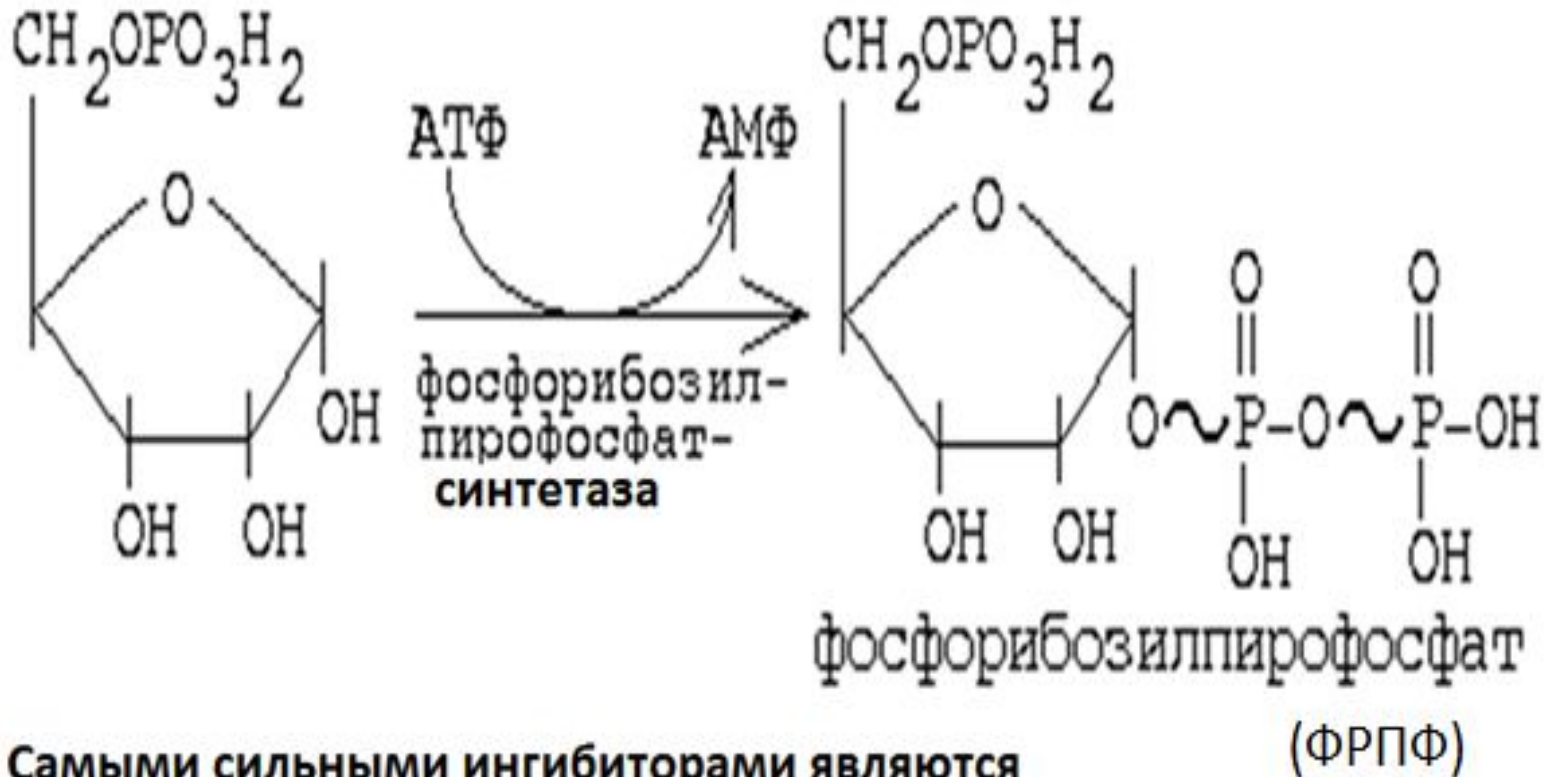
Асп в пиримидиновое

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





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



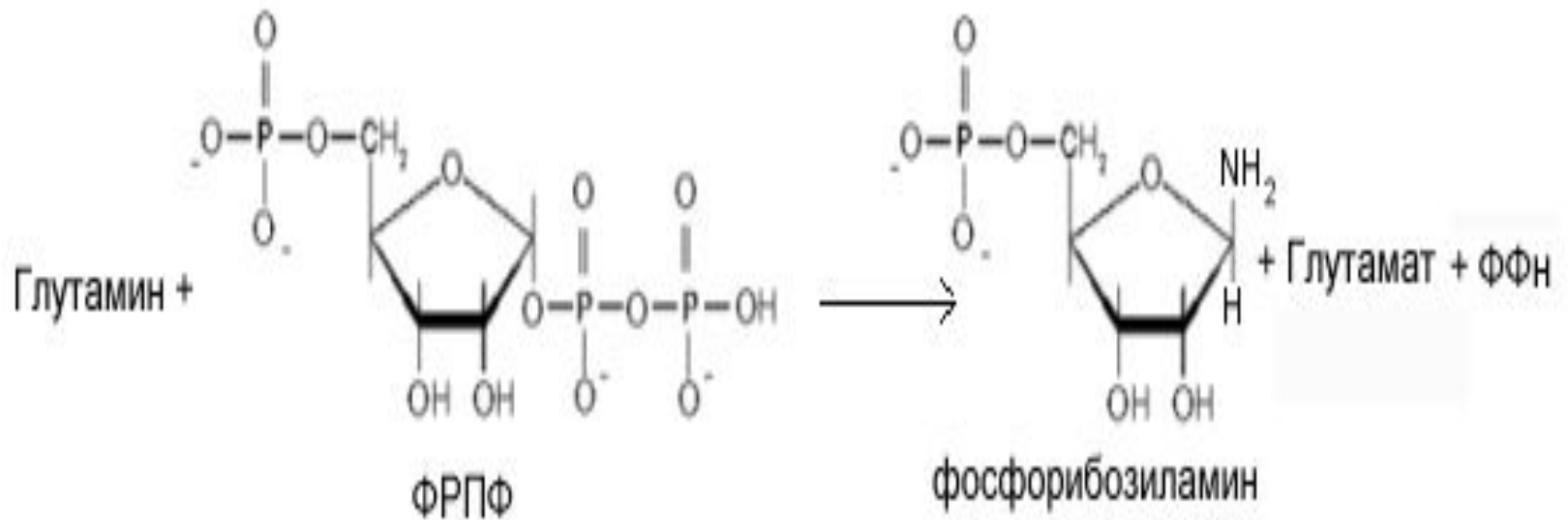
Самыми сильными ингибиторами являются

АМФ ГМФ ИМФ

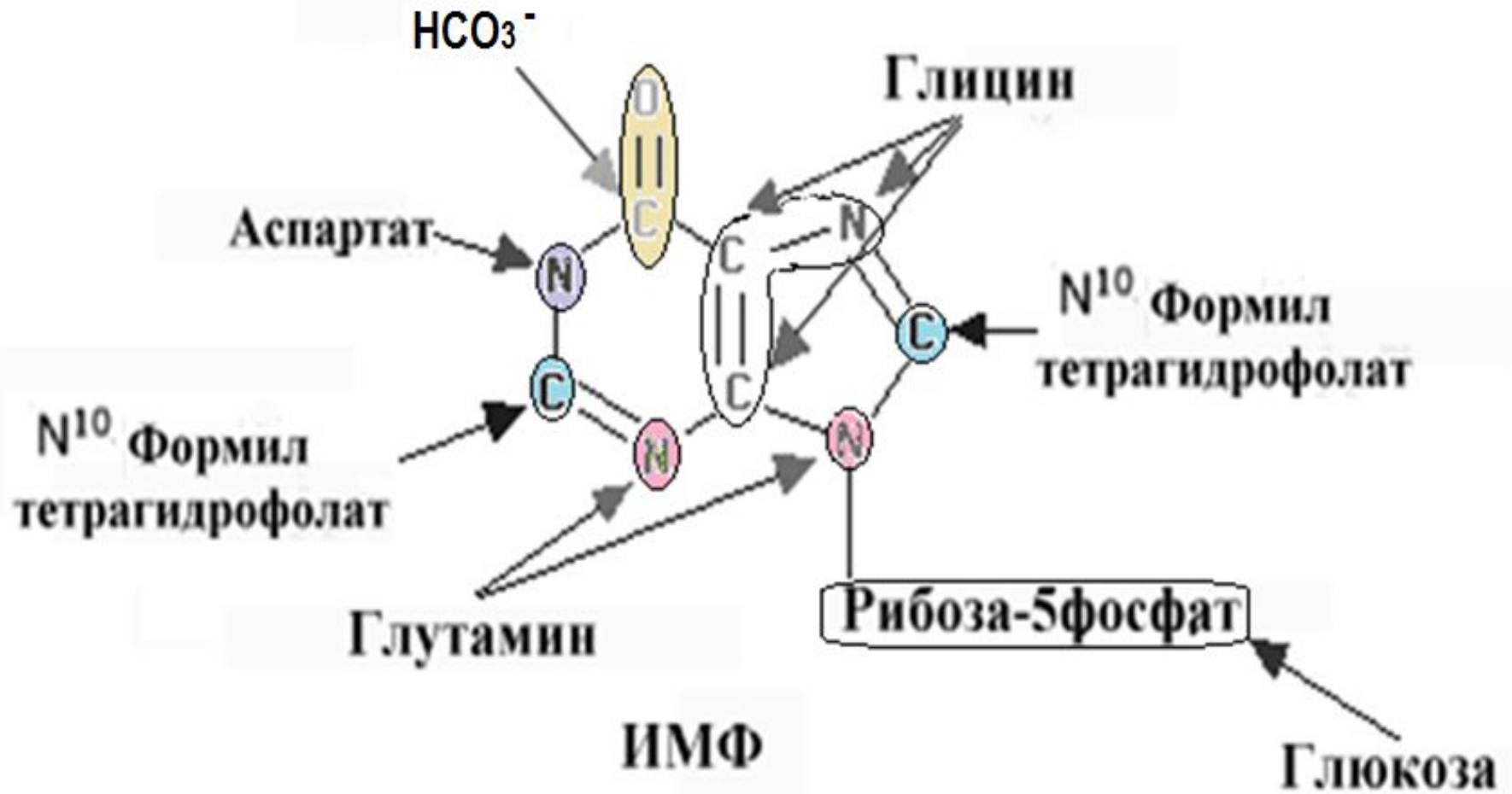
Ф<sub>н</sub> - активатор



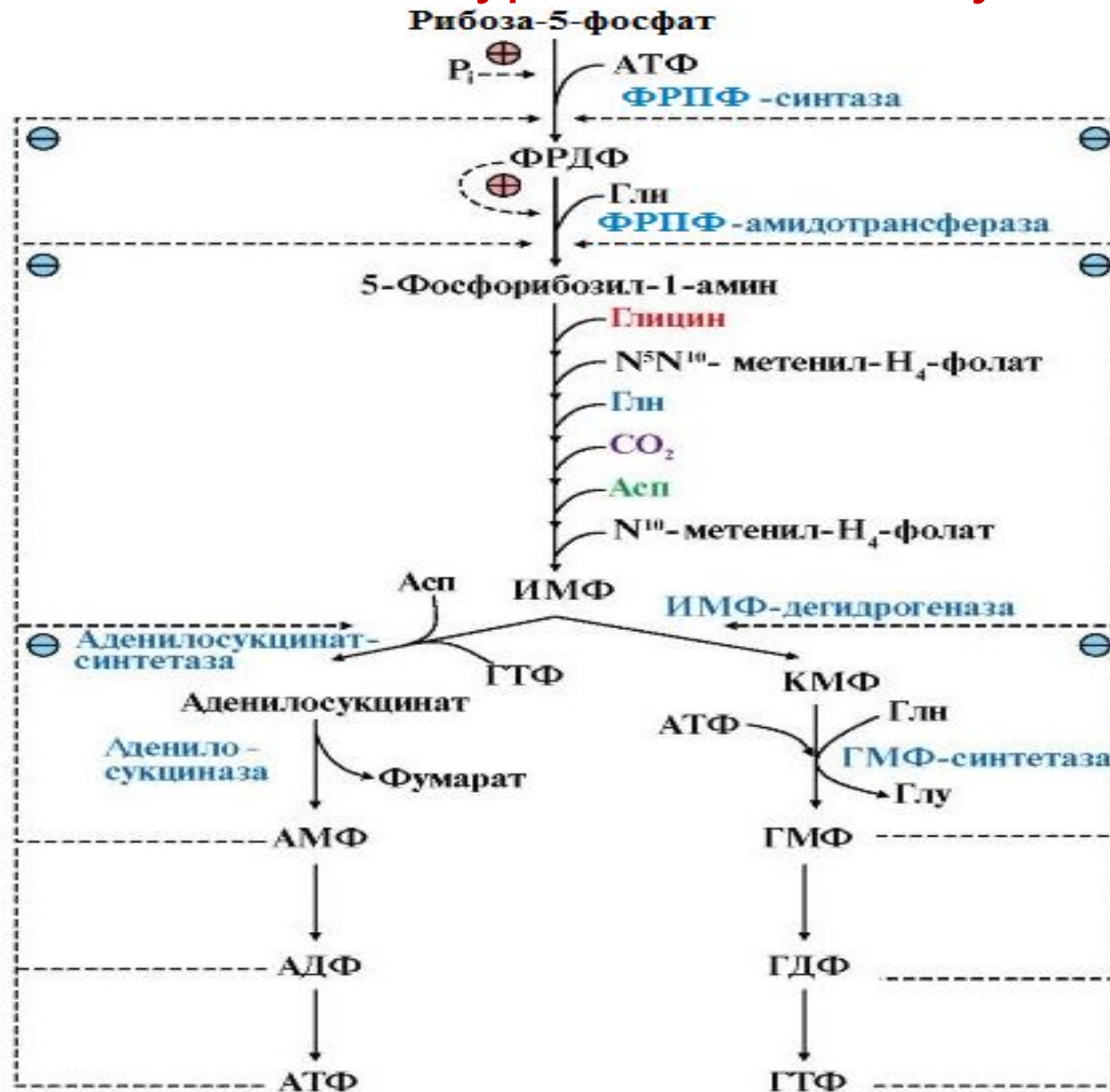
Ключевая реакция биосинтеза пуриновых нуклеотидов происходит активно в цитозоле печени с помощью фермента **ФРПР-амидотрансферазы**



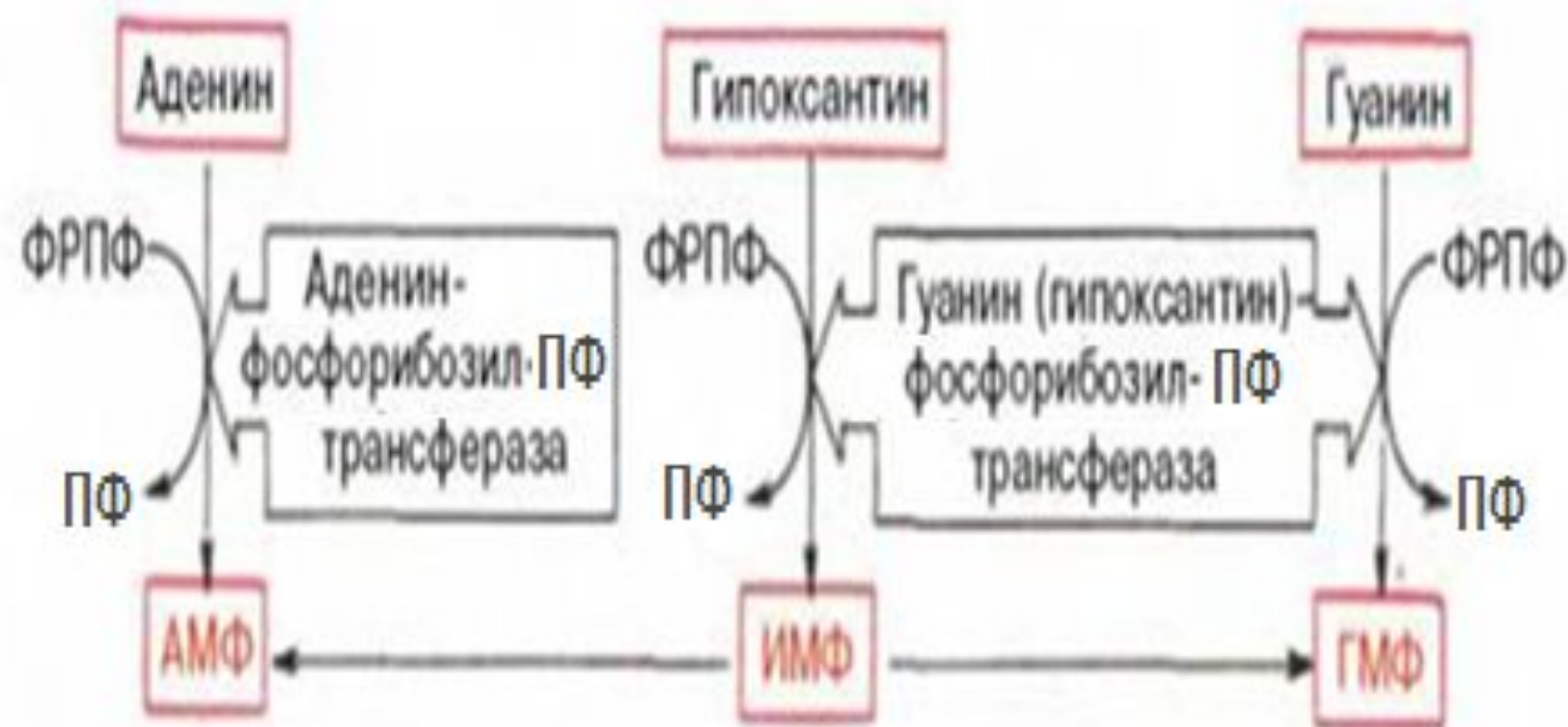
# Происхождение атомов в общем предшественнике пуриновых нуклеотидов



# Регуляция синтеза пуриновых мононуклеотидов



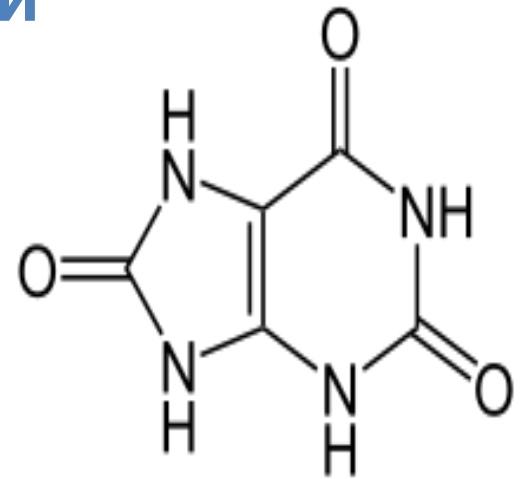
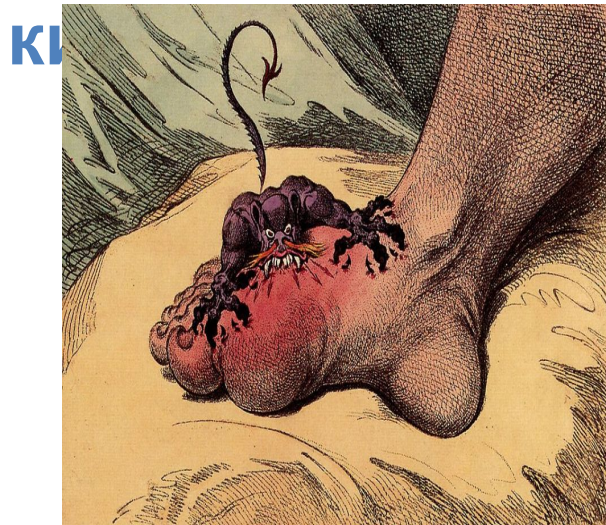
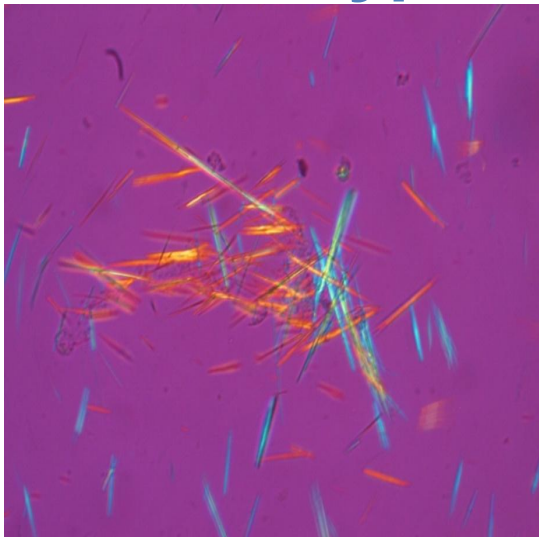
Резервные пути синтеза пуриновых нуклеотидов –  
реутилизация пуриновых азотистых оснований,  
получающихся в ходе катаболизма



# 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

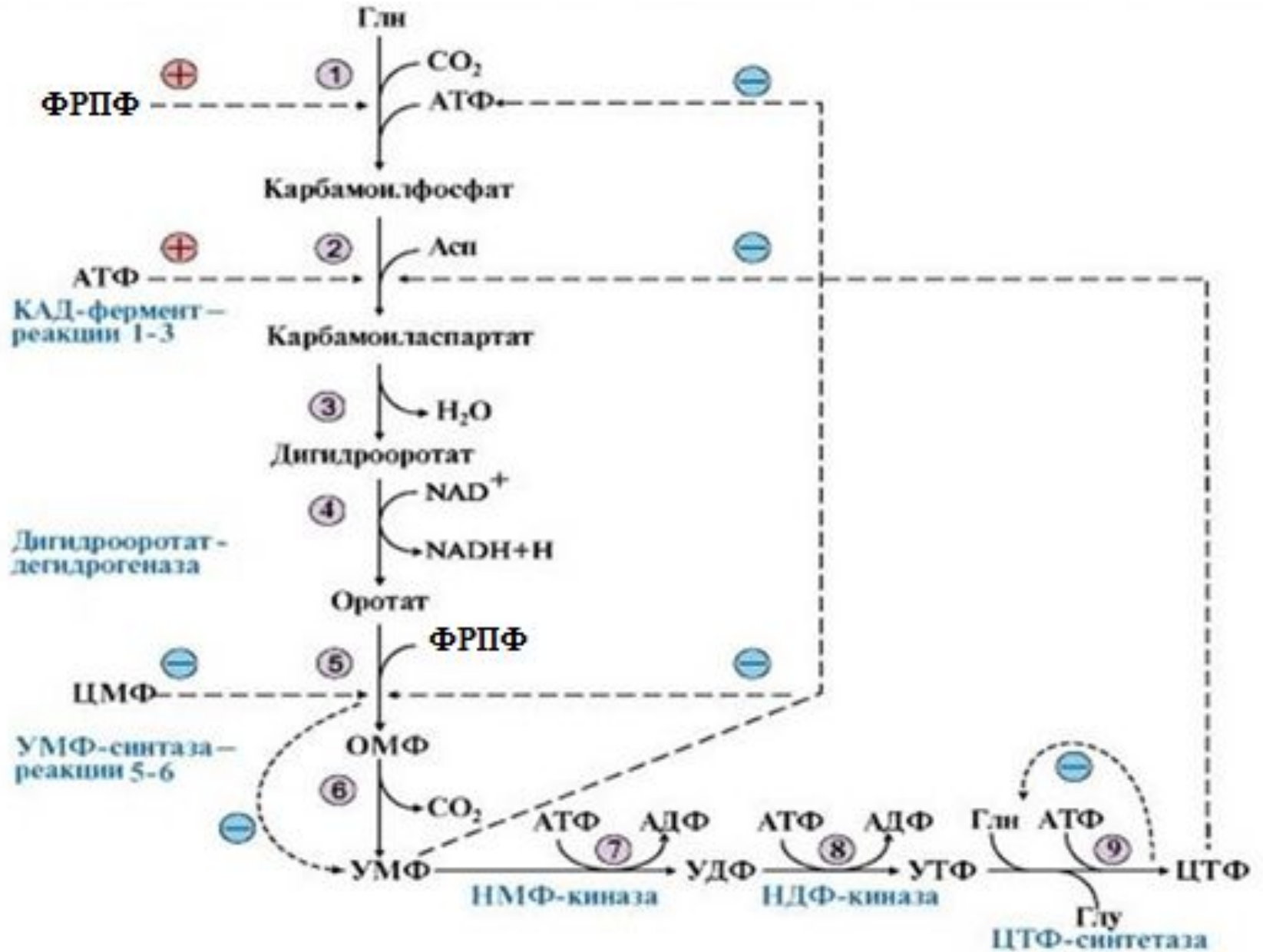


**Клинически подагра  
проявляется рецидивирующим  
острым артритом и образованием  
подагрических узлов — тофусов.**

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);

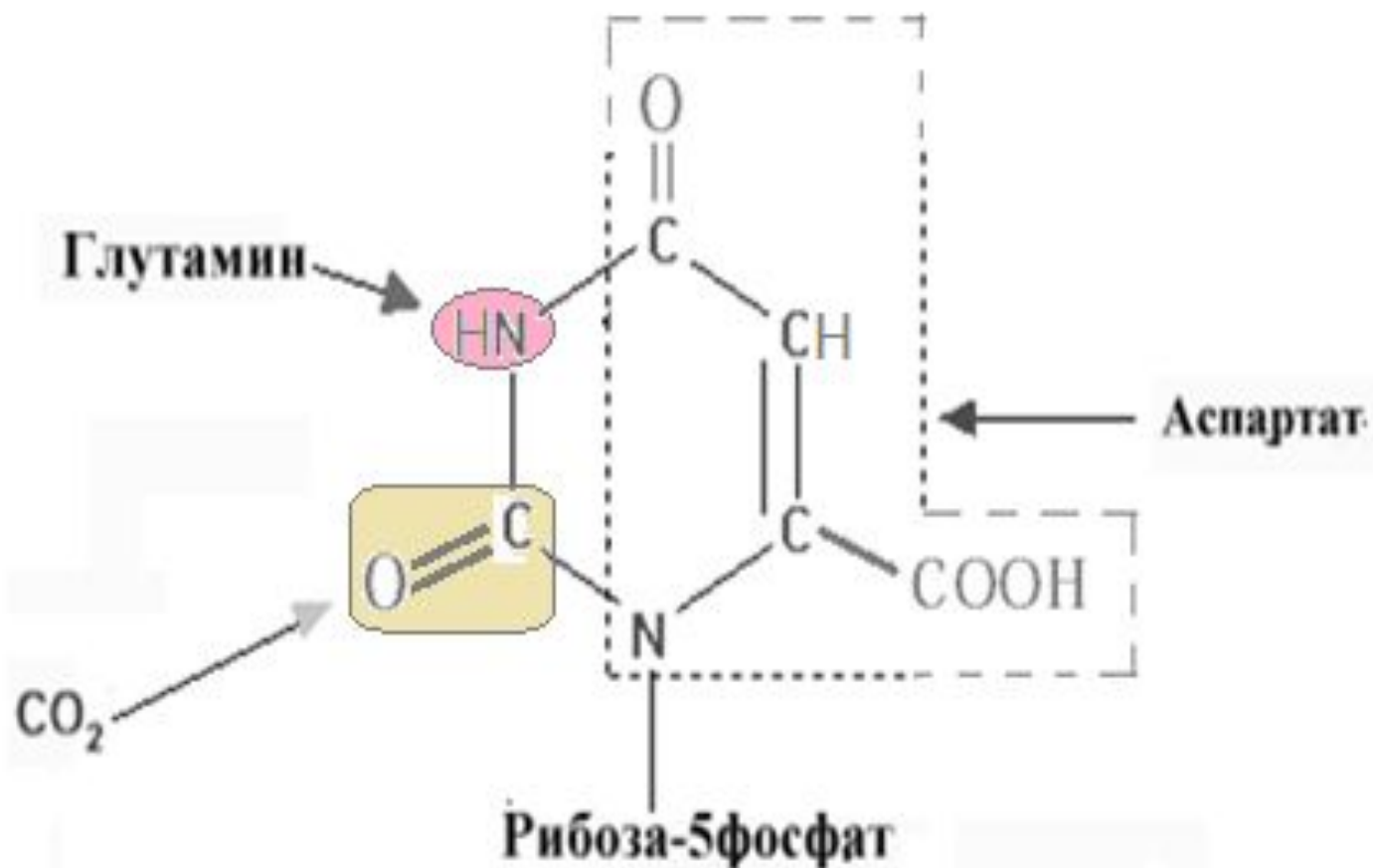
7 - НМФ-киназа;

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

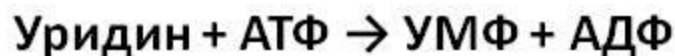
Причина: снижение активности **УМФ-синтазы**

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:

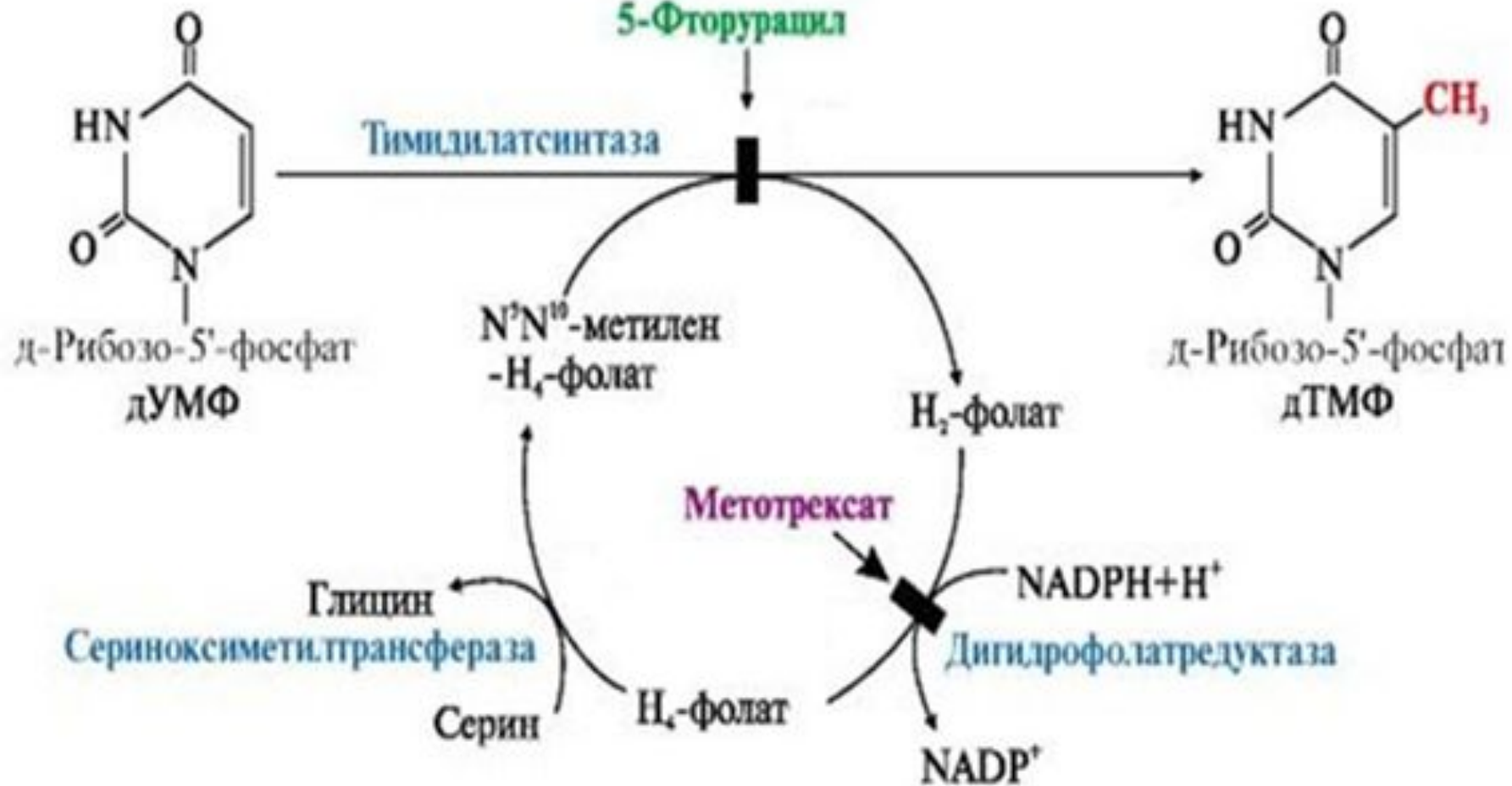
**рибонуклеозидредуктаза** — фермент, катализирующий восстановление рибозы в составе нуклеотида

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

**тиоредоксинредуктаза** — фермент, восстанавливающий окисленный тиоредоксин за счет водорода NADFH



5-Фторурацил



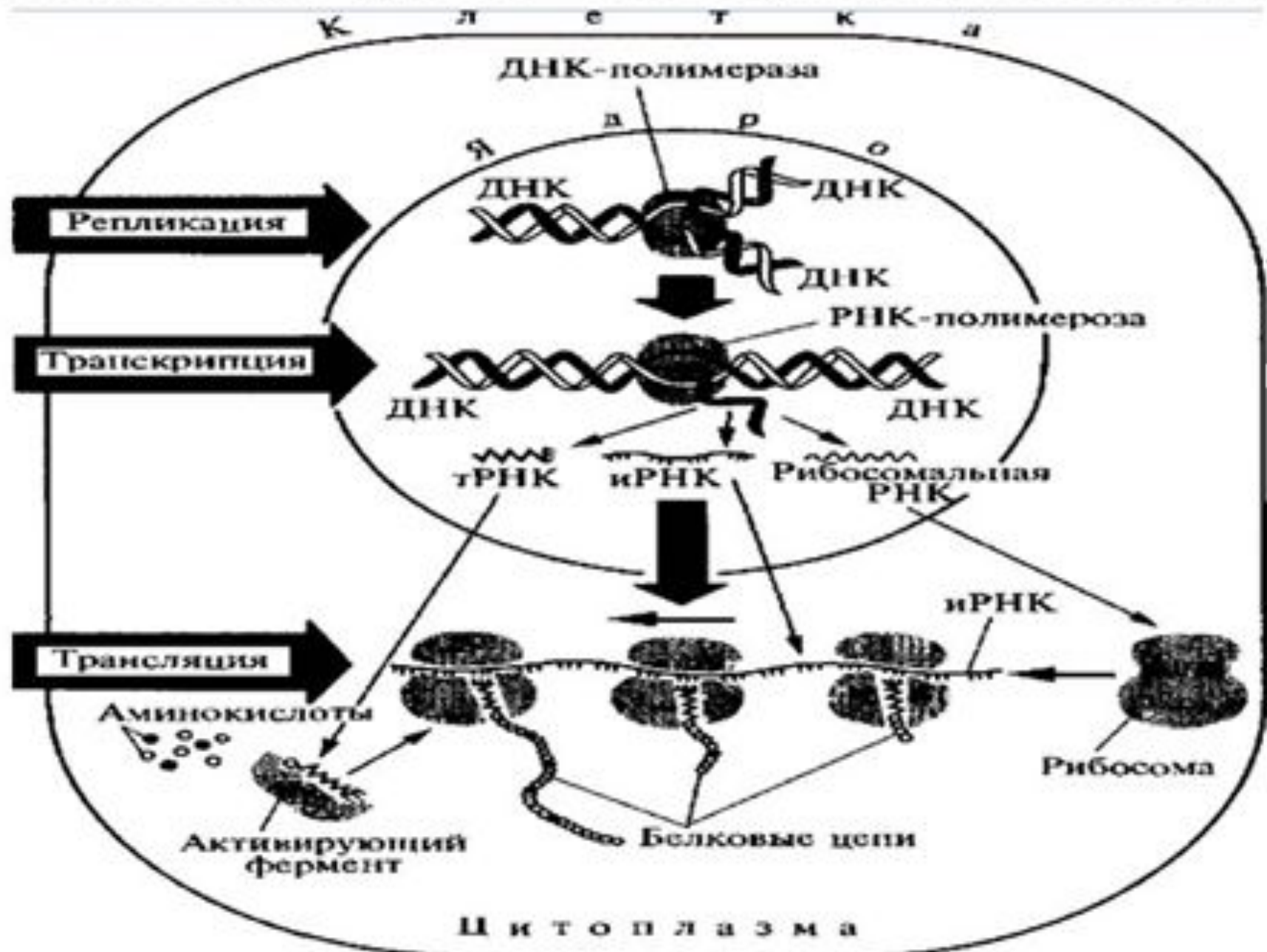
Препараты, часто используемые в лечении онкологических заболеваний, останавливают синтез дТМФ на стадиях превращения дУМФ в дТМФ и восстановления H<sub>2</sub>-фолата (ДФФК) в H<sub>4</sub>-фолат (ТГФК)

## 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 ( $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ ,  $\delta$ ,  $\epsilon$ ):
  - $\alpha$ - инициирует синтез новой цепи (РНК-праймаза)
  - $\beta$ - участвует в репарации ДНК
  - $\gamma$ - синтез митохондриальной ДНК
  - $\delta$ - может синтезировать отстающую цепь
  - $\epsilon$ - элонгирует ведущую цепь





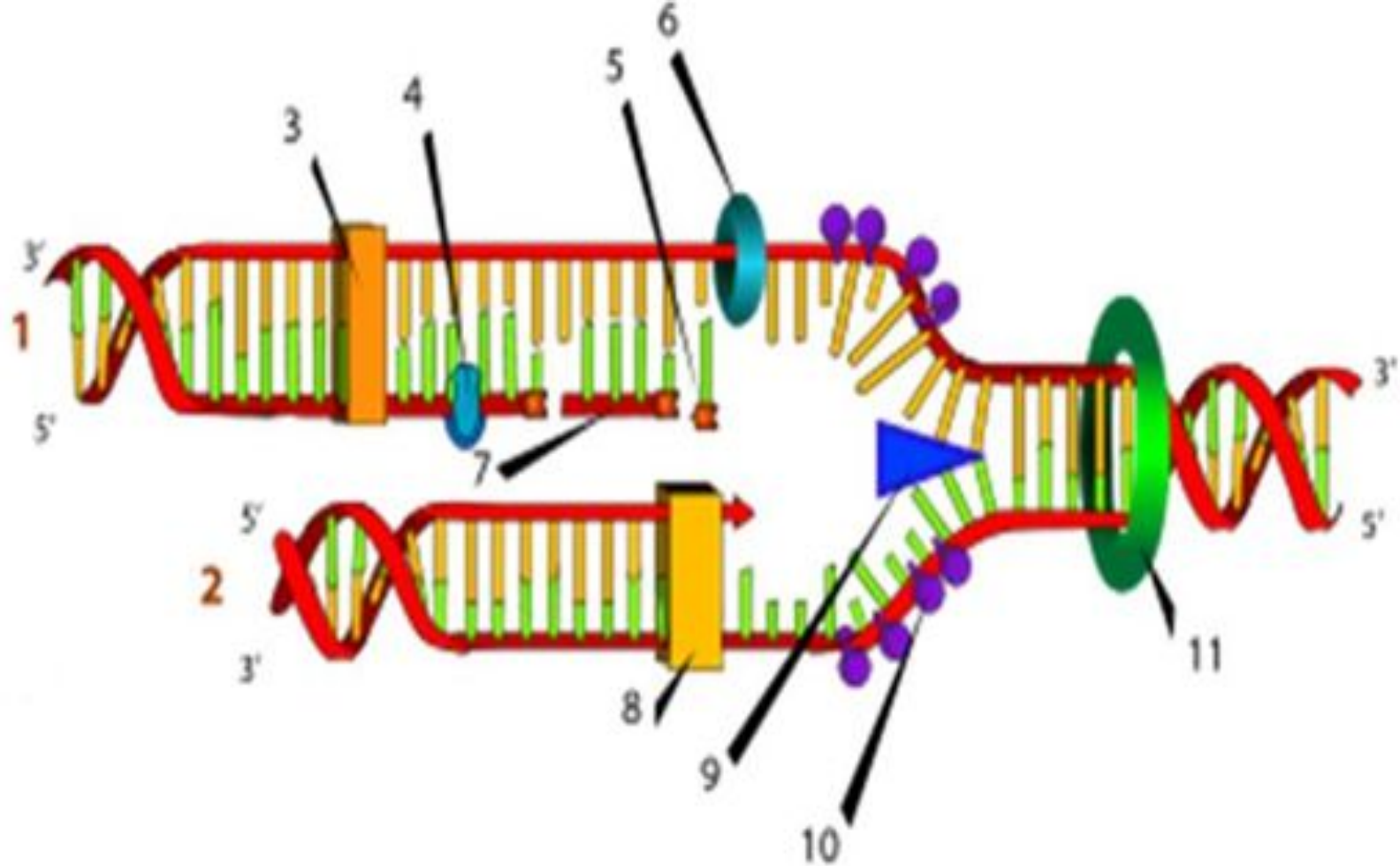


Схема процесса репликации

1- запаздывающая нить, 2 – лидирующая нить, 3 – ДНК-полимераза ( $\delta$ ),  
 4 – ДНК-лигаза, 5 – РНК-праймер, 6 – праймаза, 7 – фрагмент  
 Оказаки, 8 - ДНК-полимераза ( $\epsilon$ ), 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

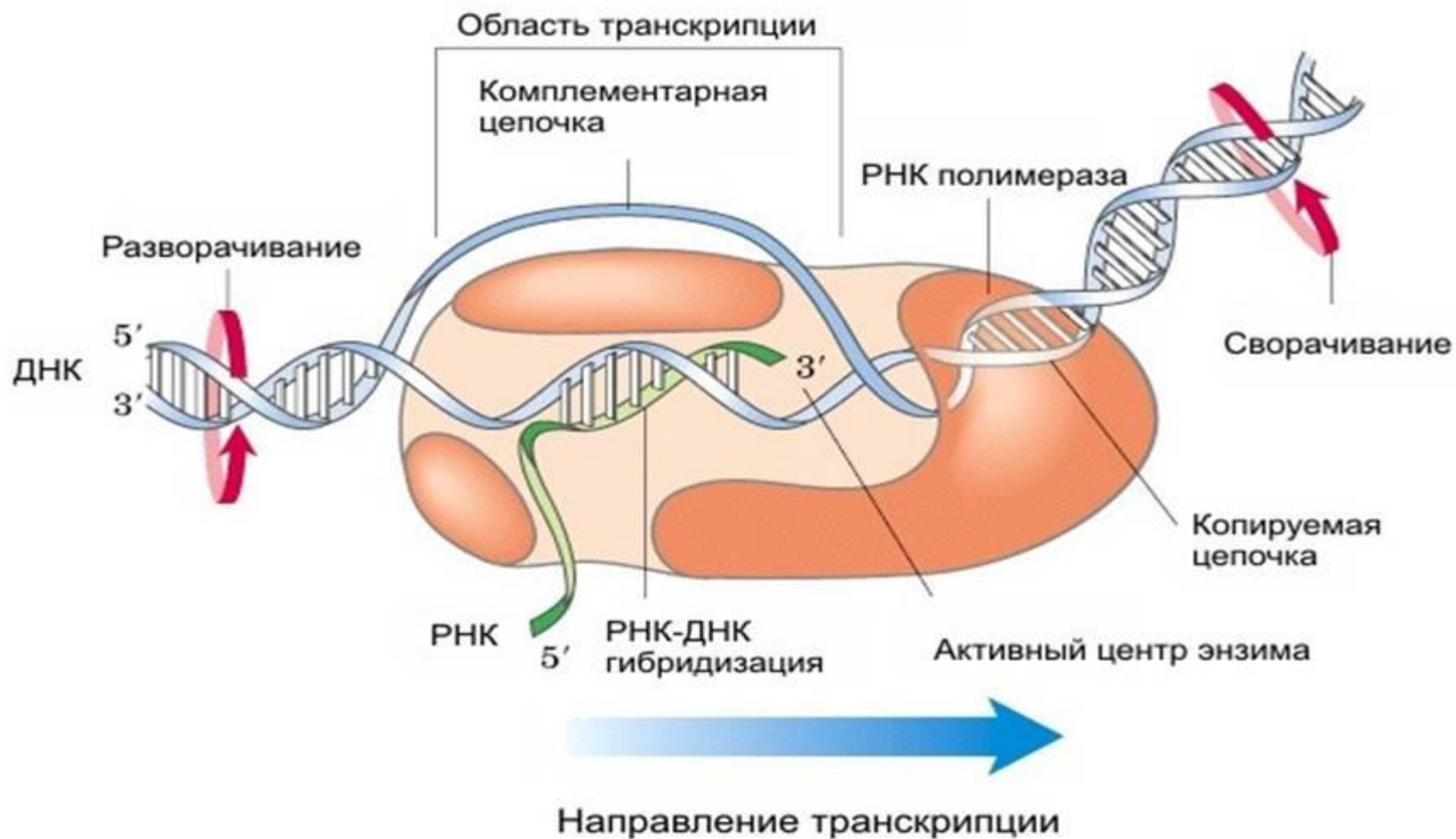
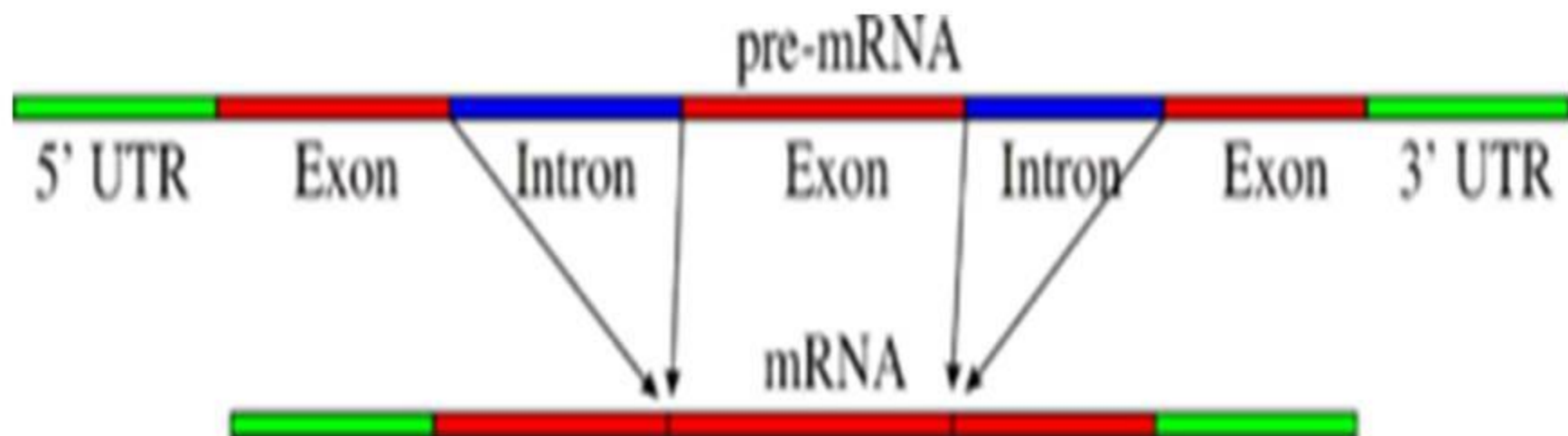
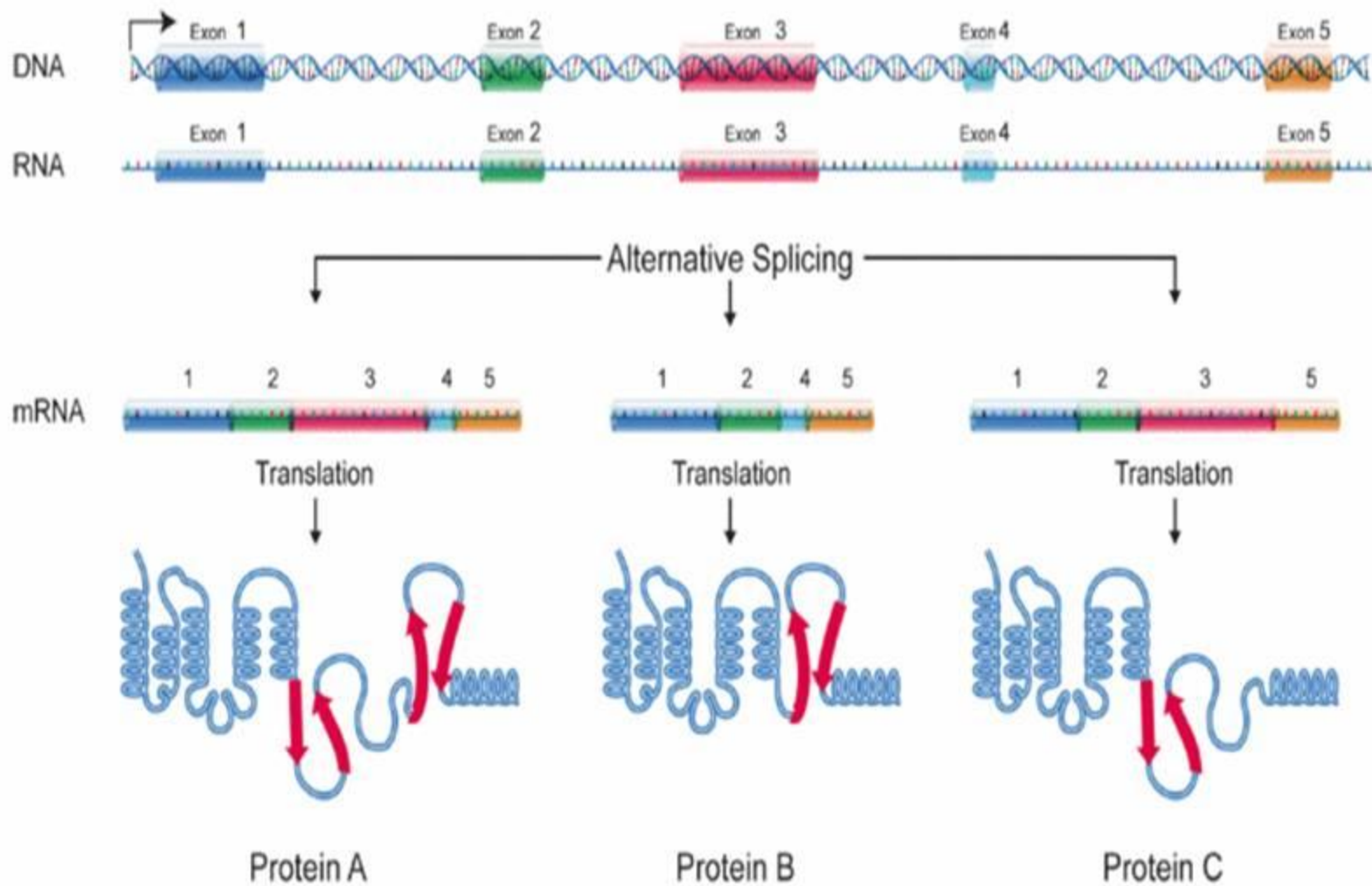


Схема сплайсинга, в процессе которого пре-мРНК созревает в зрелую РНК.

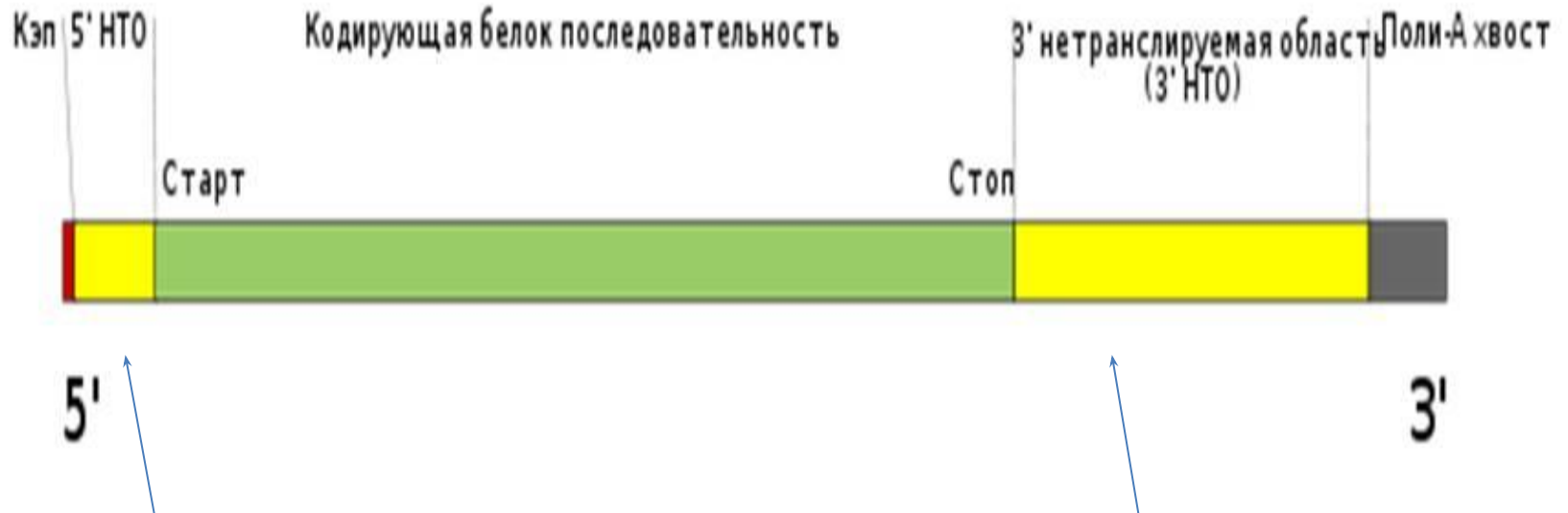
**Зелёный** — нетранслируемые участки (UnTranslated Regions, UTR), **синий** — интроны, **красный** — транслируемые (кодирующие белок) участки



## Схема альтернативного сплайсинга



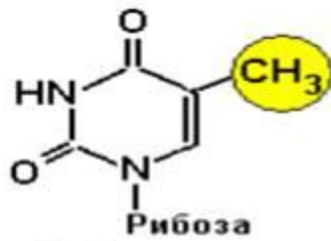
# Схема строения зрелой мРНК



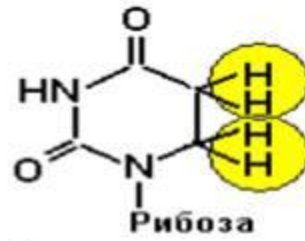
Нетранслируемые области РНК содержат участки, которые регулируют белковый синтез



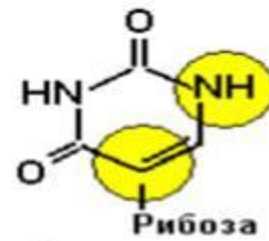
## Минорные азотистые основания



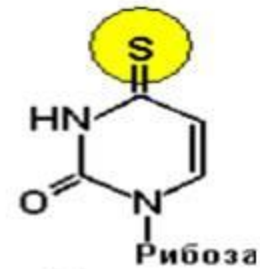
Риботимидин



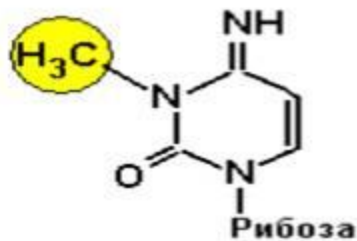
Дигидроуридин



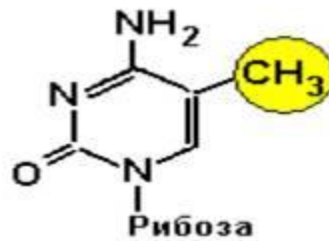
Псевдоуридин



4-Тиоуридин



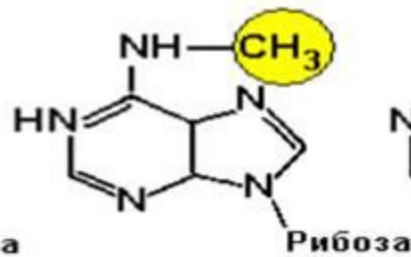
3-Метилцитидин



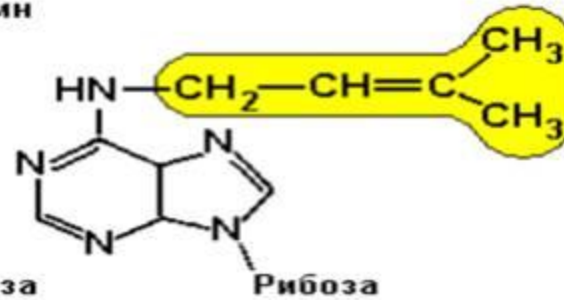
5-Метилцитидин



Инозин



N<sup>6</sup>-метиладенозин



N<sup>6</sup>-изопентиладенозин

**Спасибо за внимание!**

