

Нуклеопротейны — комплексы нуклеиновых кислот с белками.

К нуклеопротейнам относятся устойчивые комплексы нуклеиновых кислот с белками, длительное время существующие в клетке в составе органелл или структурных элементов клетки в отличие от разнообразных короткоживущих промежуточных комплексов “белок-нуклеиновая кислота” (комплексы нуклеиновых кислот с ферментами — синтетазами и гидролазами — при синтезе и деградации нуклеиновых кислот, комплексы нуклеиновых кислот с регуляторными белками и т. п.).

В зависимости от типа входящих в состав нуклеопротейновых комплексов нуклеиновых кислот различают **рибонуклеопротейны** и **дезоксирибонуклеопротейны**.

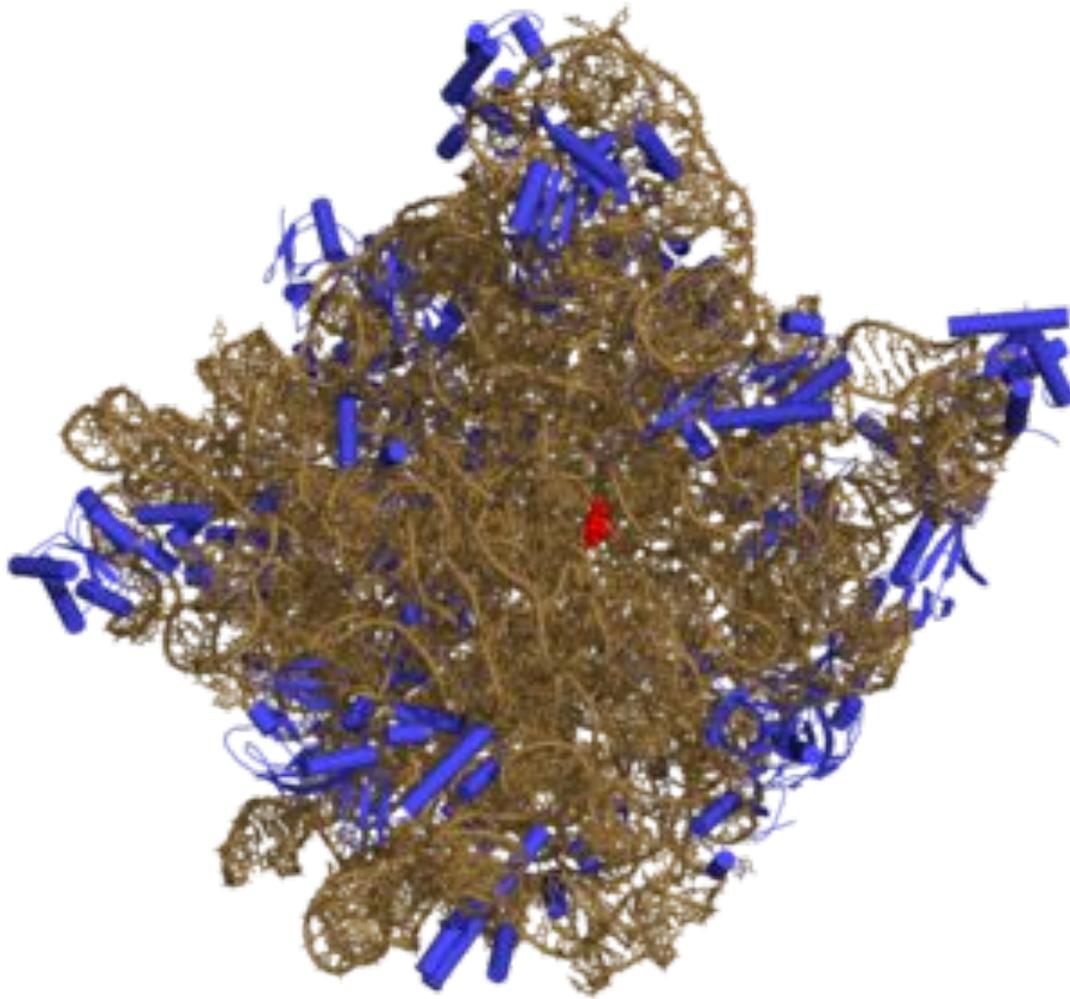
Нуклеопротейны составляют существенную часть **рибосом, хроматина, вирусов**.

— В рибосомах **рибонуклеиновая кислота (РНК)** связывается со специфическими **рибосомальными белками**.

— Вирусы являются практически чистыми рибо- и дезоксирибонуклеопротейнами.

— В хроматине нуклеиновая кислота представлена **дезоксирибонуклеиновой кислотой**, связанной с разнообразными белками, среди которых можно выделить две основные группы – **гистоны** и **негистоновые белки**.

Устойчивость нуклеопротеиновых комплексов обеспечивается нековалентным взаимодействием. У различных нуклеопротеинов в обеспечение стабильности комплекса вносят вклад различные типы взаимодействий, при этом нуклеиново-белковые взаимодействия могут быть специфичными и неспецифичными. В случае специфического взаимодействия определённый участок белка связан со специфичной (*комплементарной* участку) нуклеотидной последовательностью, в этом случае вклад водородных связей, образующихся между нуклеотидными и аминокислотными остатками благодаря пространственному взаимному соответствию фрагментов, максимален. В случае неспецифического взаимодействия основной вклад в стабильность комплекса вносит электростатическое взаимодействие отрицательно заряженных фосфатных групп **полианиона** нуклеиновой кислоты с положительно заряженными аминокислотными остатками белка.



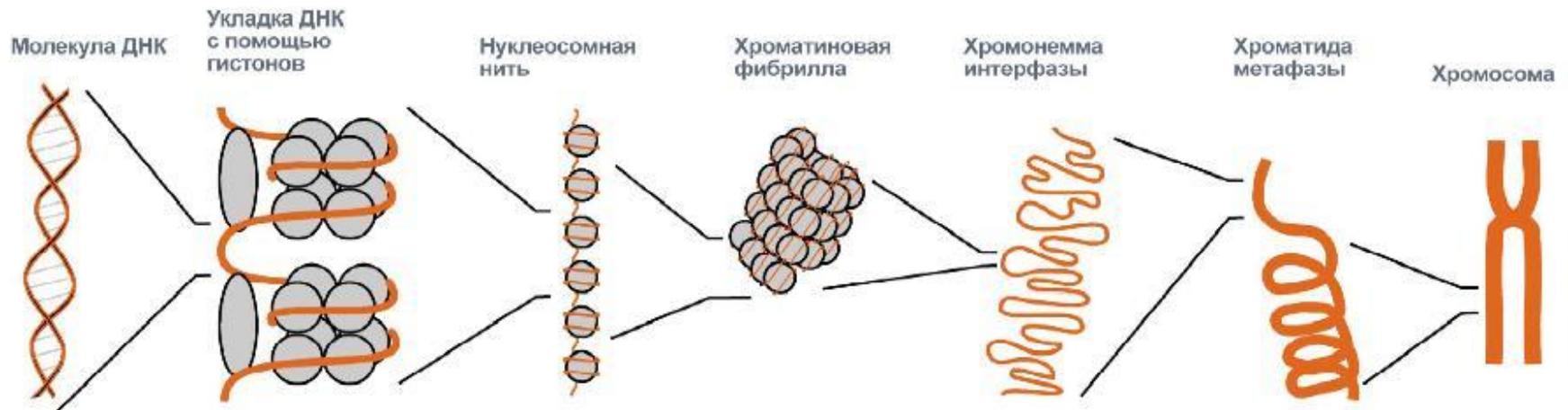
Примером *специфического взаимодействия* могут служить нуклеопротеидные комплексы рРНК — субъединицы рибосом; *неспецифичное электростатическое взаимодействие* характерно для хромосомных комплексов ДНК — хроматина и комплексов ДНК-протамины головок сперматозоидов некоторых животных.

Нуклеопротеиновый комплекс — субчастица 50S рибосом бактерий. Коричневым показана рРНК, синим — белки.

Наличие **отрицательно** заряженного фосфата в каждом нуклеотиде делает НК **полианионами**. Поэтому с белками они образуют **солеподобные** комплексы.

Схематично это можно представить так:

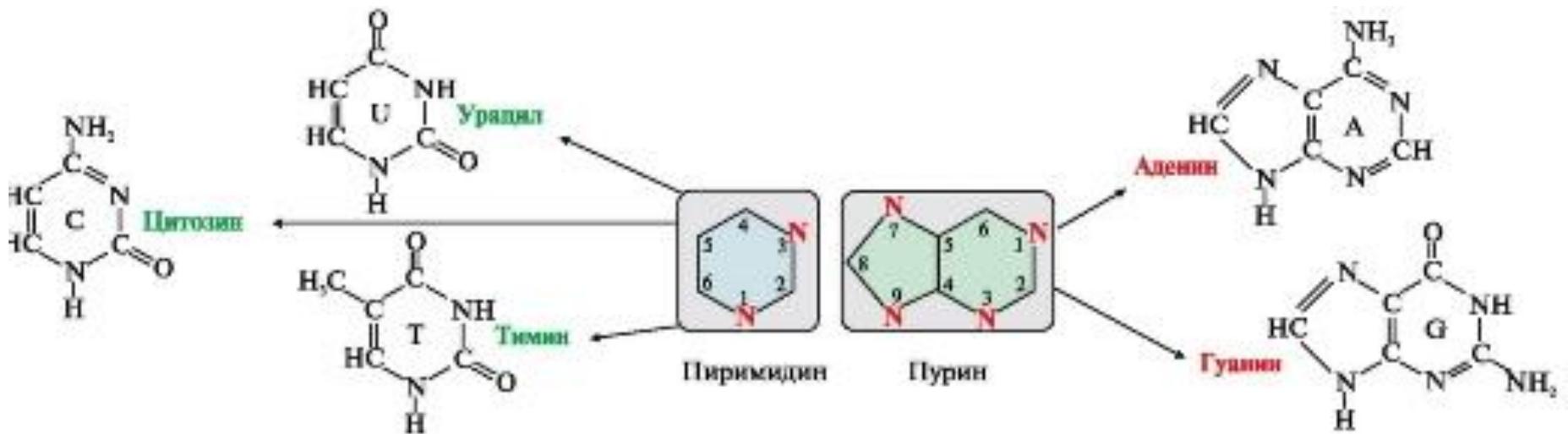
Начальный этап упаковки ДНК осуществляют **гистоны**, более высокие уровни обеспечиваются другими белками. В начале молекула ДНК обвивается вокруг гистонов, образуя **нуклеосомы**. Сформированная таким образом нуклеосомная нить напоминает бусы, которые складываются в **суперспираль (хроматиновая фибрилла)** и **суперсуперспираль (хромонемма интерфазы)**. Благодаря гистонам и другим белкам в конечном итоге размеры ДНК уменьшаются в тысячи раз: длина ДНК достигает 6-9 см (10^1), а размеры хромосом – всего несколько микрометров (10^{-6}).



Этапы организации хроматина

В каждом живом организме присутствуют 2 типа нуклеиновых кислот: рибонуклеиновая кислота (РНК) и дезоксирибонуклеиновая кислота (ДНК). Молекулярная масса самой "маленькой" из известных нуклеиновых кислот - транспортной РНК (тРНК) составляет примерно 25 кД. ДНК - наиболее крупные полимерные молекулы; их молекулярная масса варьирует от 1 000 до 1 000 000 кД. ДНК и РНК состоят из мономерных единиц - **нуклеотидов**, поэтому нуклеиновые кислоты называют полинуклеотидами.

Каждый нуклеотид в свою очередь состоит из трех компонентов: **азотистого основания**, являющегося производным пурина или пиримидина, **пентозы** (рибозы или дезоксирибозы) и **остатка фосфорной кислоты**. В состав нуклеиновых кислот входят два производных пурина - аденин и гуанин и три производных пиримидина - цитозин, урацил (в РНК) и тимин (в ДНК).



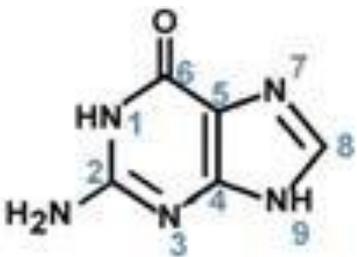
Пурины: аденин и гуанин входят в состав ДНК и РНК, пиримидины: цитозин и тимин - в состав ДНК, цитозин и урацил - в состав РНК.

Свойства азотистых оснований:

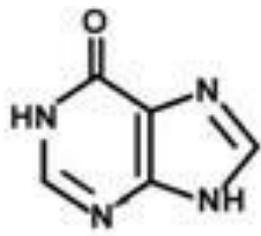
- плохо растворимы в воде (гидрофобны);
- плоскостные (копланарные);
- поглощают ультрафиолет при 260 нм.



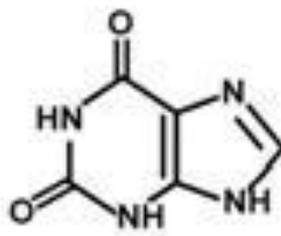
Аденин



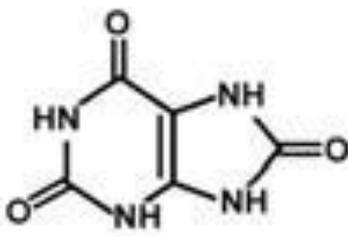
Гуанин



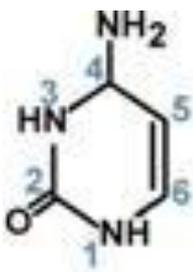
Гипоксантин



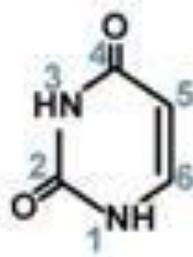
Ксантин



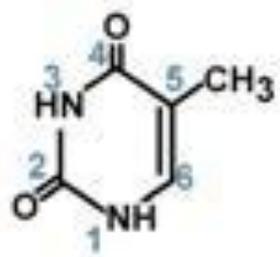
Мочевая кислота



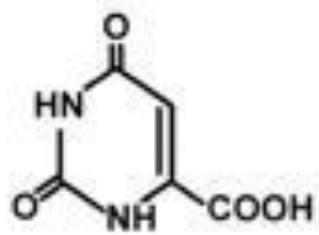
Цитозин



Урацил

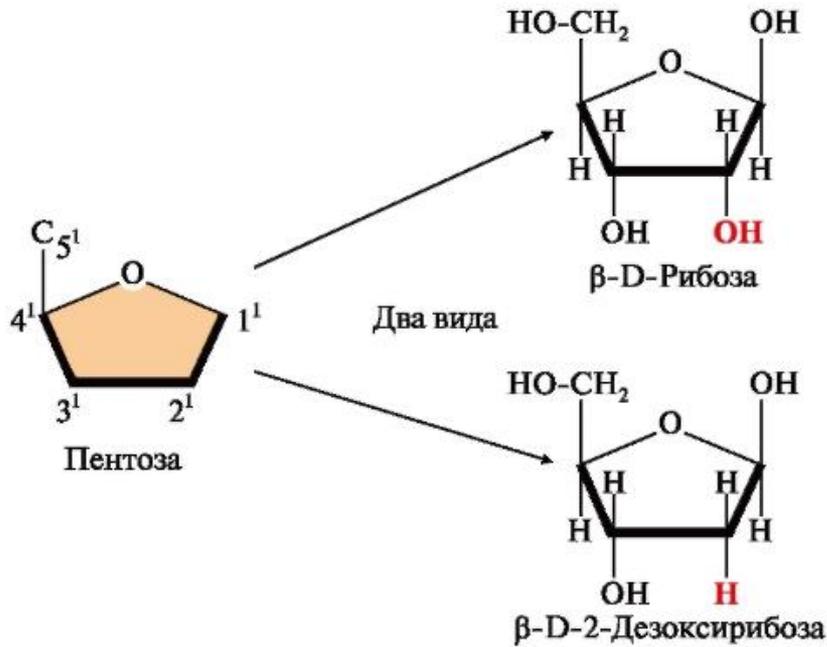


Тимин



Оротовая кислота

В нуклеиновые кислоты входят два вида пентоз: β -D-рибоза в РНК и β -D-2-дезоксирибоза в молекулу ДНК

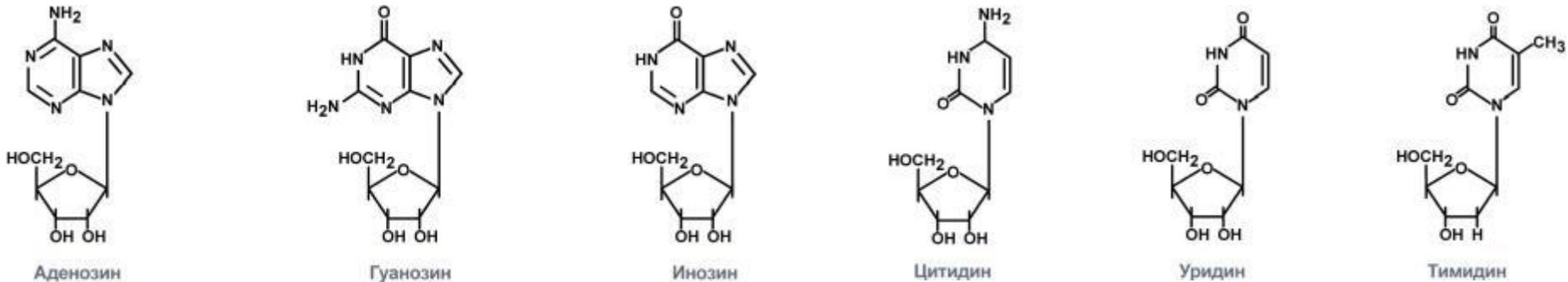


АО + пентоза = **нуклеозид**:
 гидрофильны
 N-гликозидная связь

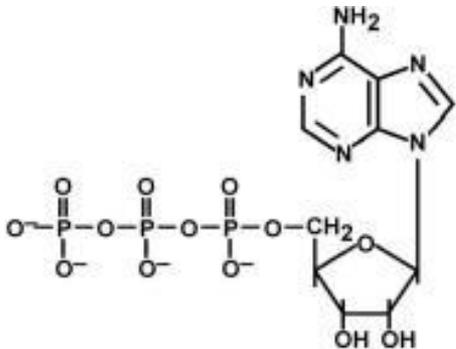
Номенклатура нуклеозидов:

Все пуриновые **-озин**

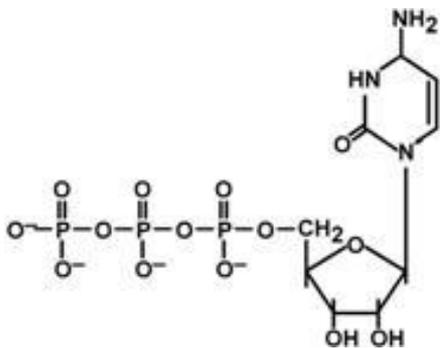
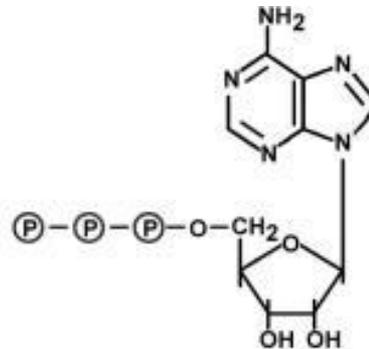
Все пиримидиновые **-идин**



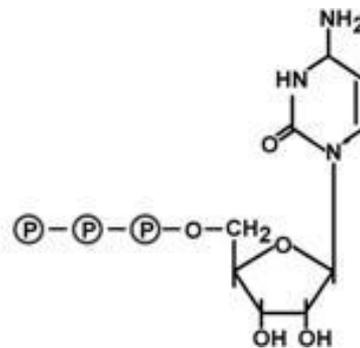
Нуклеотид = фосфорилированный нуклеозид = нуклеозид + 1-4 остатка H_3PO_4



Строение АТФ



Строение ЦТФ



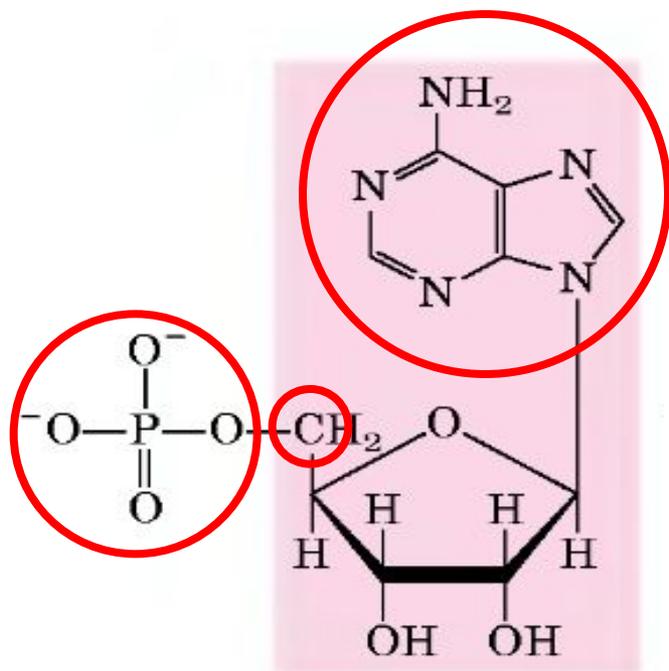
Свойства:

- несут отрицательный заряд
- проявляют кислотные свойства

Номенклатура нуклеотидов:

*нуклеозид-5'-монофосфат,
нуклеозид-5'-дифосфат,
нуклеозид-5'-трифосфат.*

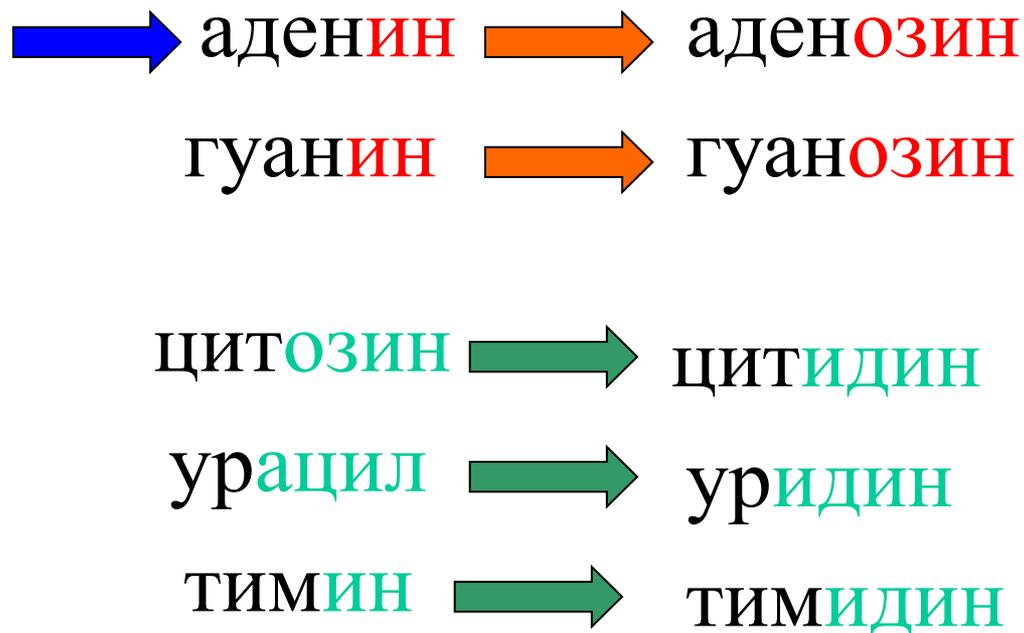
Образование названий нуклеозидов и нуклеотидов



аденозин-5`-монофосфат
или
адениловая кислота
или
АМФ

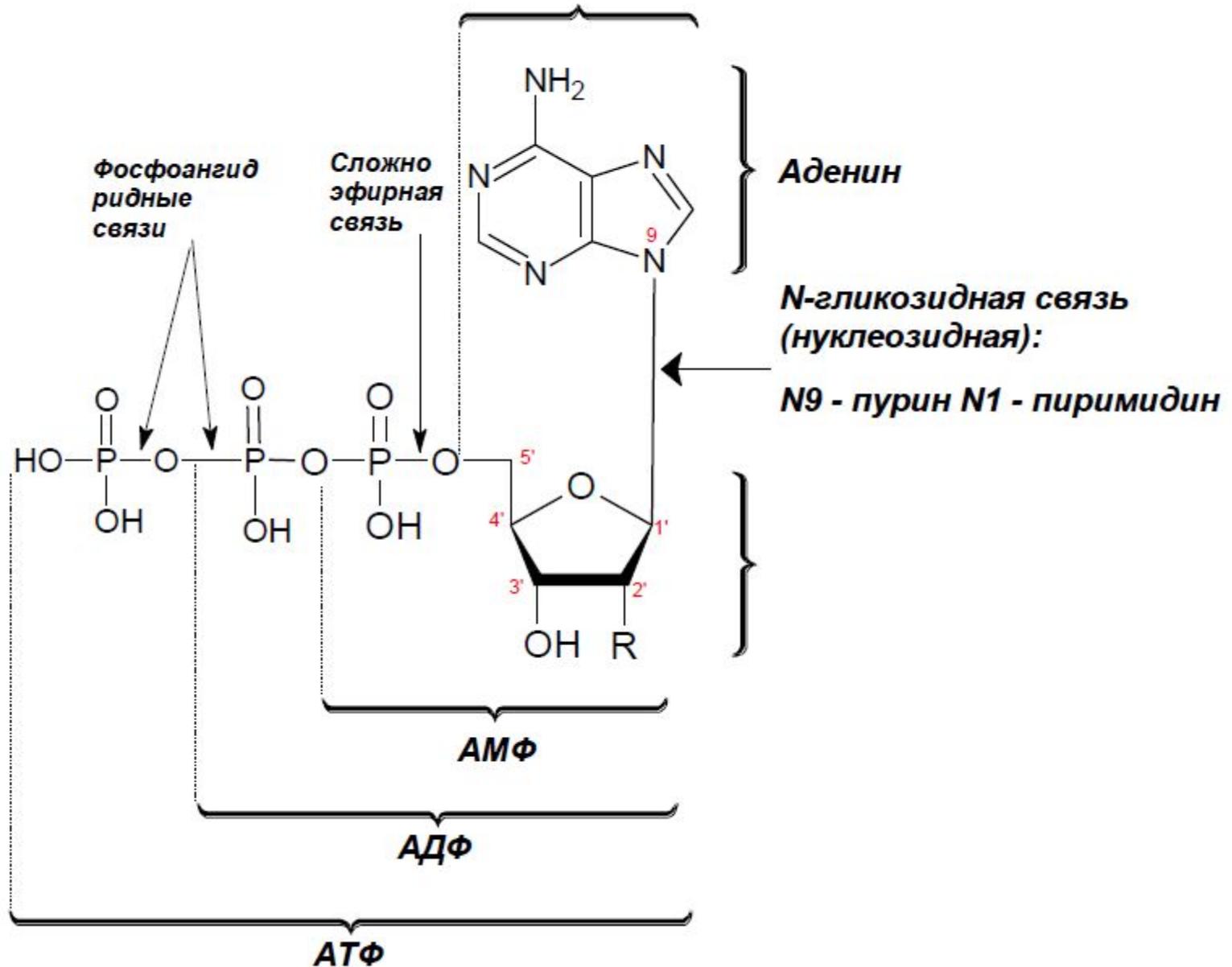
основание

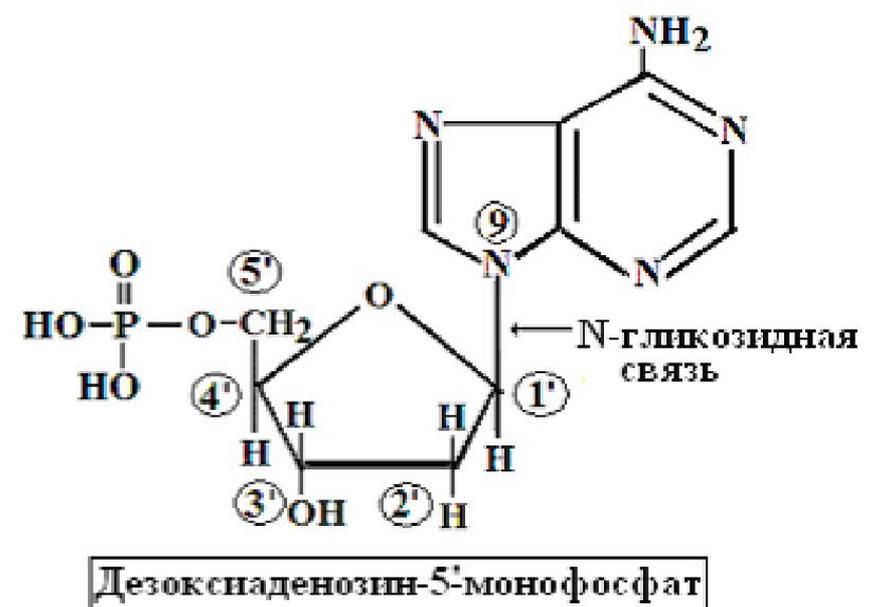
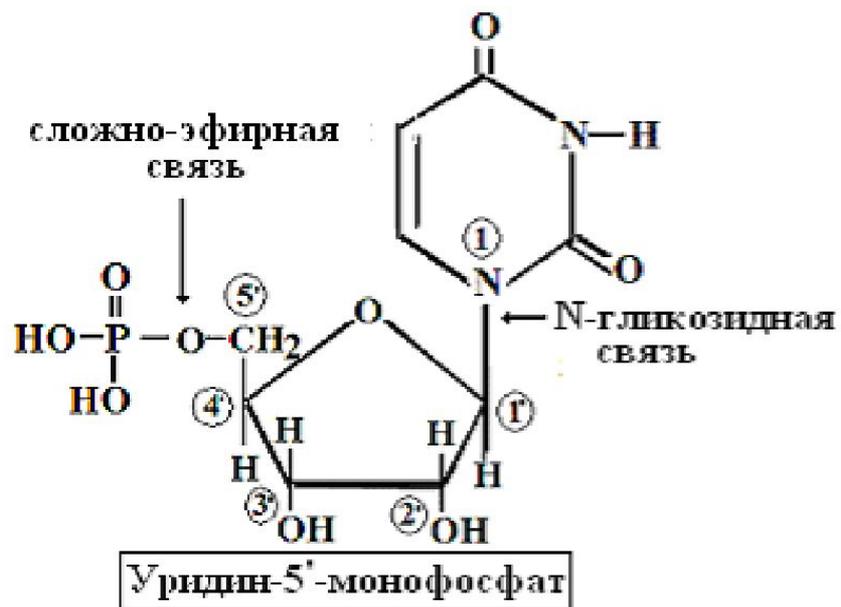
нуклеозид

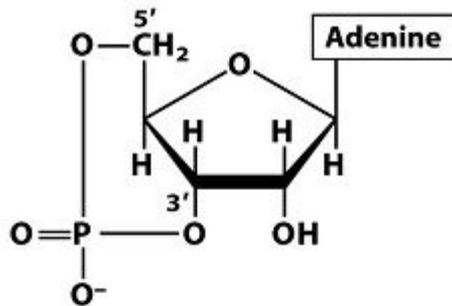


В случае дезоксирибонуклеотидов к названию основания прибавляется «дезокси»

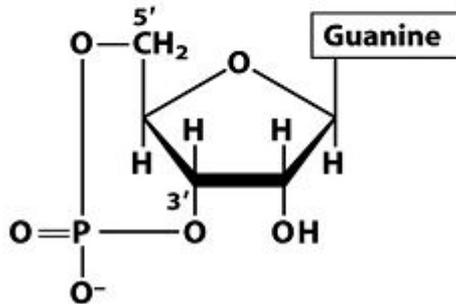
Аденозин





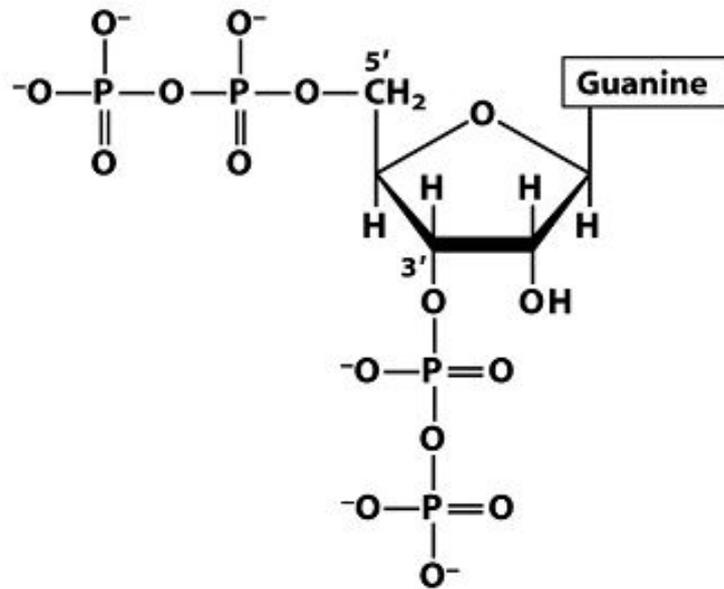


Adenosine 3',5'-cyclic monophosphate
(cyclic AMP; cAMP)



Guanosine 3',5'-cyclic monophosphate
(cyclic GMP; cGMP)

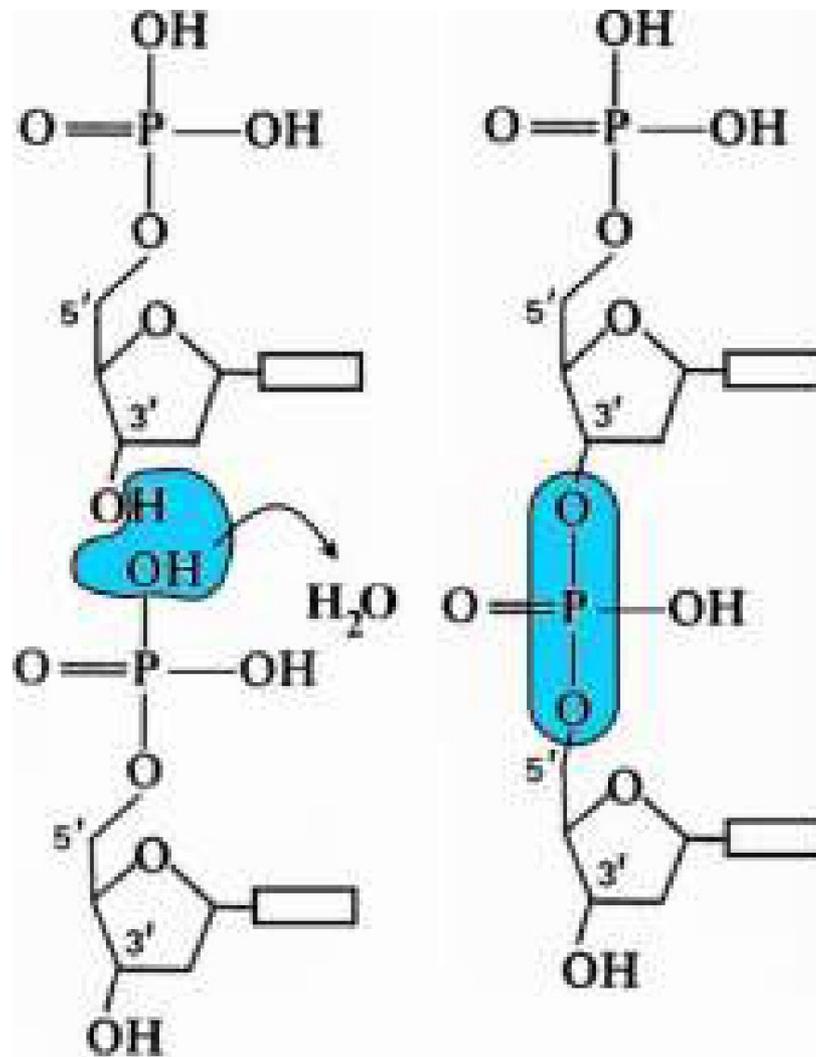
Известны также **циклические нуклеотиды**, в которых фосфорная кислота образует сложноэфирные связи одновременно с 5' и 3'-атомами углерода рибозного цикла. Это аденозин-3',5'-циклофосфат (цАМФ) и гуанозин-3',5'-циклофосфат (цГМФ). Эти два нуклеотида не входят в состав НК, но играют роль передатчиков, вторичных посредников (мессенджеров) сигналов в клетке, стимулируя переход белков из неактивного состояния в активное, или наоборот.



**Guanosine 5'-diphosphate, 3'-diphosphate
(guanosine tetraphosphate)
(ppGpp)**

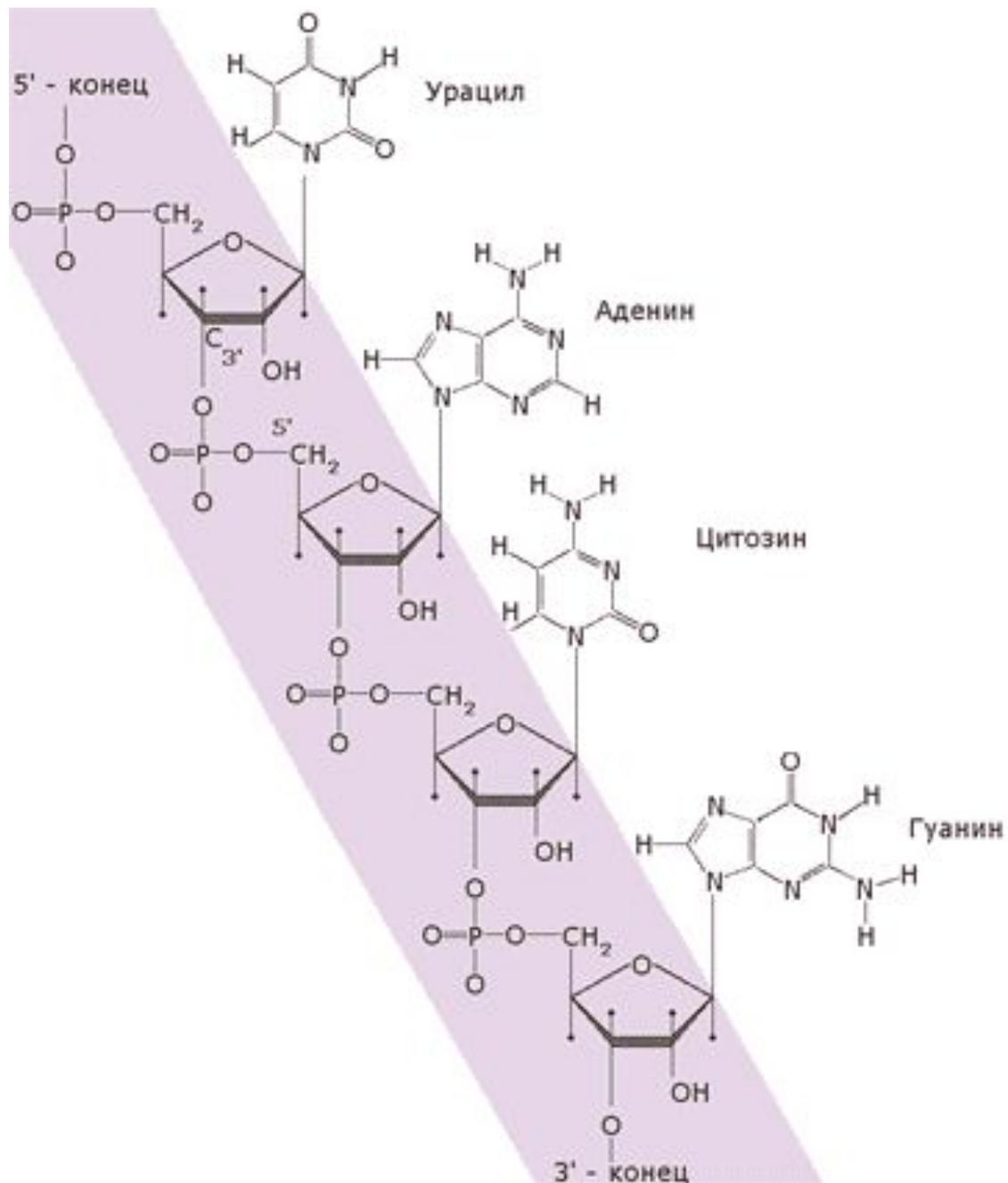
Гуанозин-5'-дифосфат-3'-дифосфат —внутриклеточный регулятор метаболизма бактерий

Нуклеотиды	Названия нуклеотидов		Сокращенные названия	
	Как монофосфатов	Как кислот		
РНК	1. Аденозин-5'-монофосфат	Адениловая кислота	АМФ	
	2. Гуанозин-5'-монофосфат	Гуаниловая кислота	ГМФ	
	3. Цитидин-5'-монофосфат	Цитидиловая кислота	ЦМФ	
	4. Уридин-5'-монофосфат	Уридиловая кислота	УМФ	
ДНК	1. Дезоксиаденозин-5'-монофосфат	Дезоксиадениловая кислота	дАМФ	
	2. Дезоксигуанозин-5'-монофосфат	Дезоксигуаниловая кислота	дГМФ	
	3. Дезоксицитидин-5'-монофосфат	Дезоксицитидиловая кислота	дЦМФ	
	4. Тимидин-5'-монофосфат	Тимидиловая кислота	дТМФ	
Циклические нуклеотиды	Аденозин-3',5'-циклофосфат	Циклоадениловая кислота	цАМФ	
	Гуанозин-3',5'-циклофосфат	Циклогуаниловая кислота	цГМФ	



**Соединение двух нуклеотидов
в динуклеотид 3',5'-
фосфодиэфирной связью**

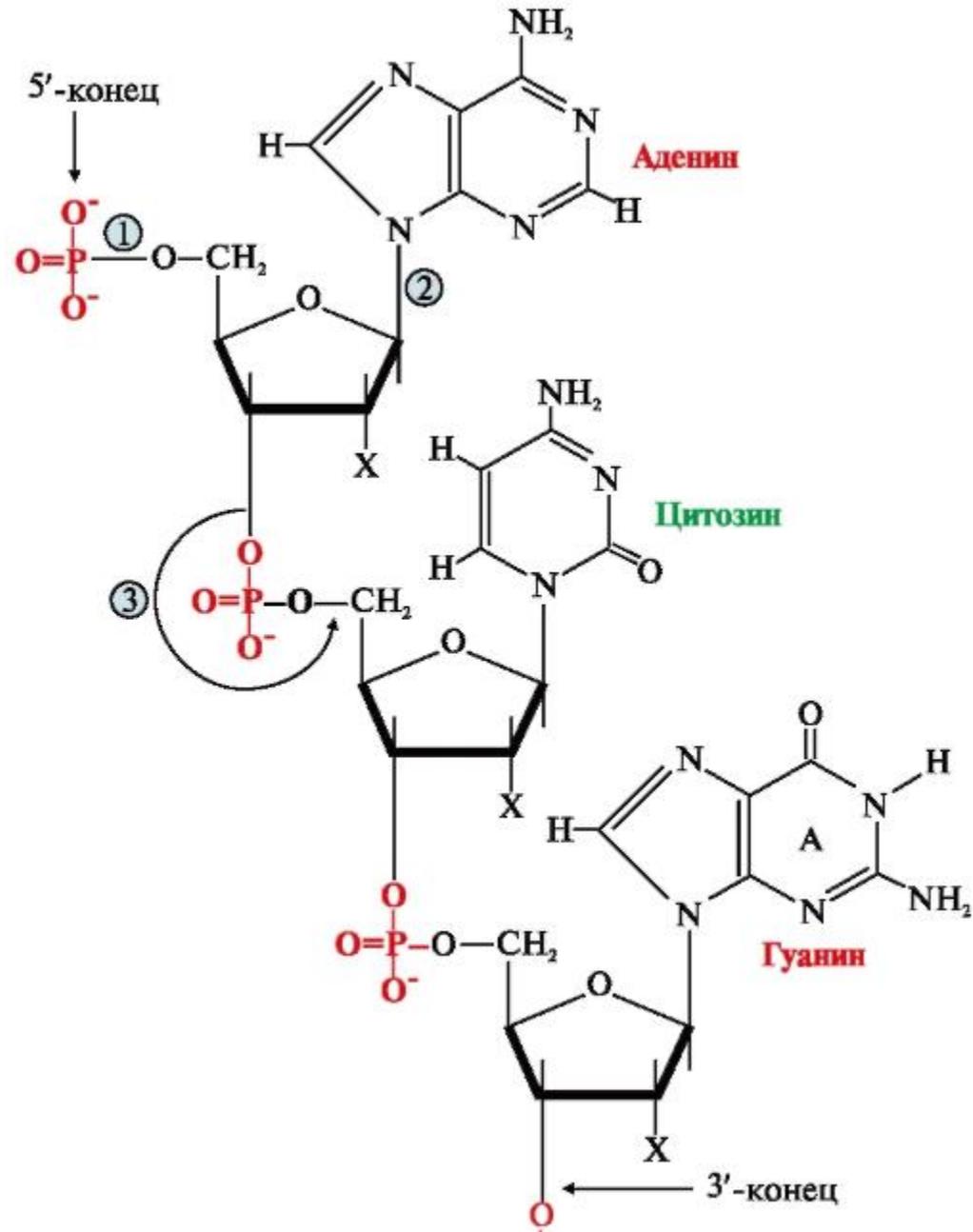
Первичная структура нуклеиновых кислот - это порядок чередования нуклеотидов, связанных друг с другом в линейной последовательности 3',5'-фосфодиэфирной связью. В результате образуются полимеры с фосфатным остатком на 5'-конце и свободной -ОН-группой пентозы на 3'-конце.



Первичная структура нуклеиновых кислот X = Н для ДНК, X = ОН для РНК

Связи в молекуле нуклеиновых кислот: 1 - 5'-фосфоэфирная (или сложноэфирная); 2 - N-гликозидная; 3 - 3',5'-фосфодиэфирная.

Чтение последовательности производится от 5'-конца к 3'-концу.



Для краткого изображения последовательности нуклеотидов в нуклеиновых кислотах пользуются однобуквенным кодом. При этом запись осуществляют слева направо таким образом, что первый нуклеотид имеет свободный 5'-фосфатный конец, а последний -ОН группу в положении 3' рибозы или дезоксирибозы.

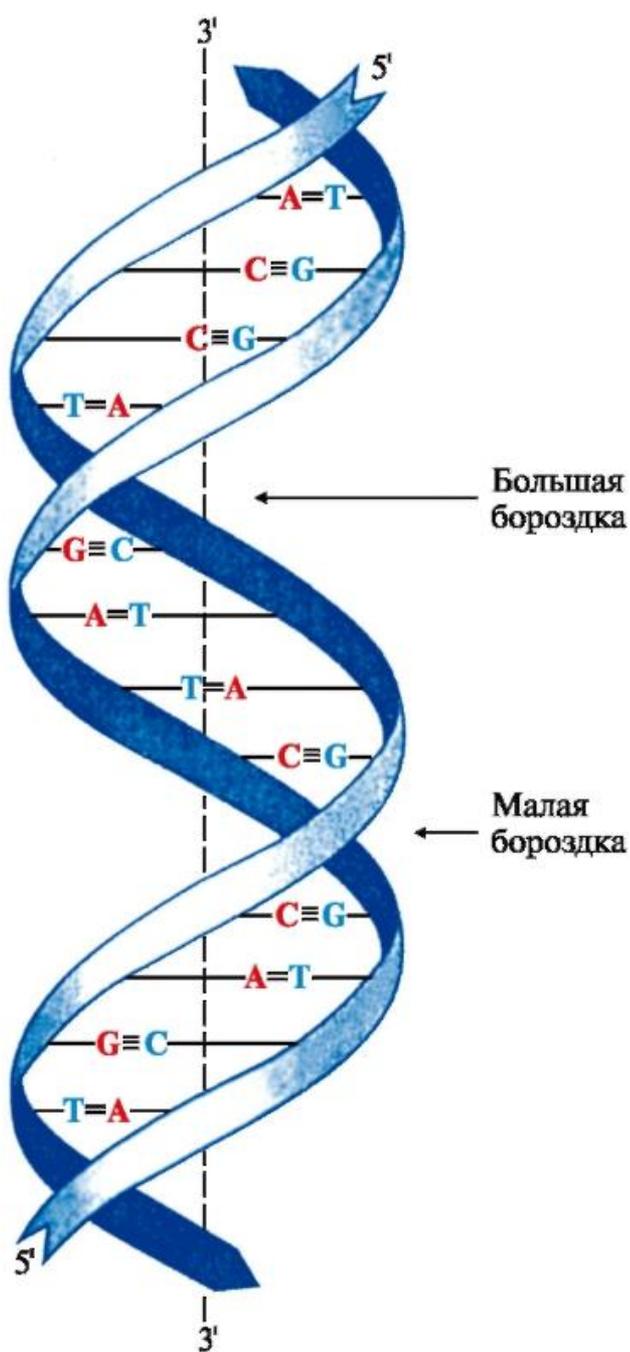
Так, первичная структура ДНК может быть записана следующим образом: CGTAAGTTCG...

Если в изображаемом фрагменте ДНК нет Т, то перед началом записи ставится приставка д- (дезокси).

Иногда полинуклеотидная цепь имеет противоположное направление, в этих случаях направление цепей обязательно указывается от 5'- к 3'- или от 3'- к 5'-концу.

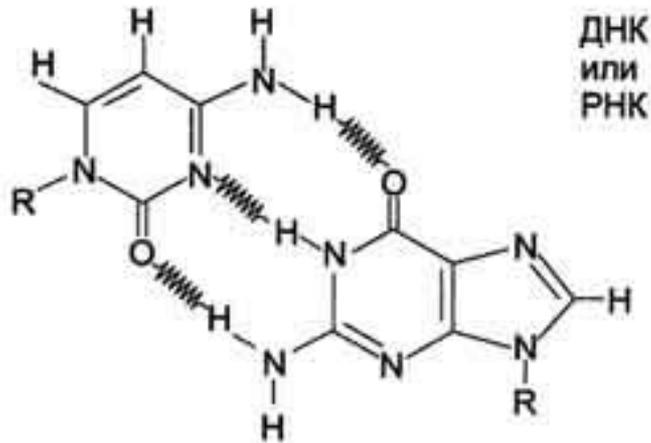
Первичную структуру РНК можно представить таким образом: CAUUAGGUAA...

Пространственная структура ДНК

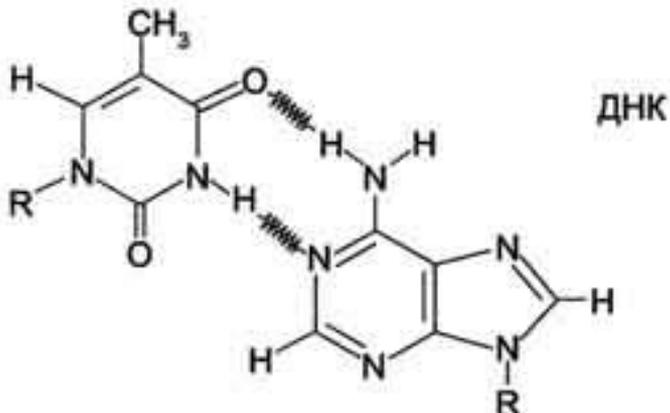


Вторичная структура ДНК представлена двойной спиралью, в которой две полинуклеотидные цепи расположены антипараллельно и удерживаются относительно друг друга за счет взаимодействия между комплементарными азотистыми основаниями. Полинуклеотидные цепи молекулы ДНК неидентичны, но комплементарны друг другу.

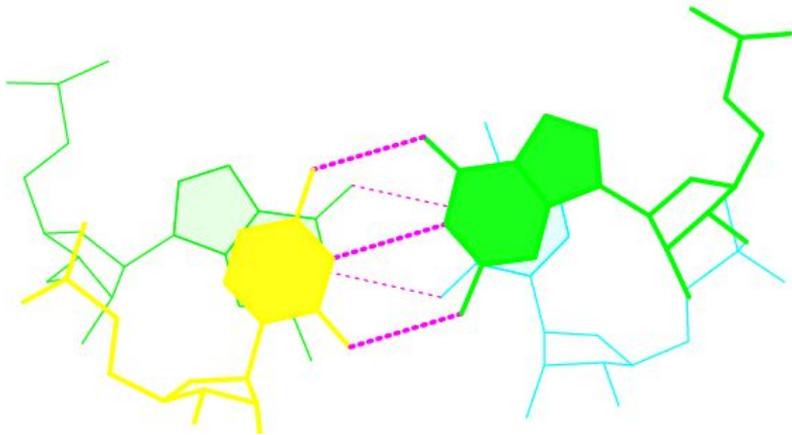
Цитозин ::: Гуанин
(три водородные связи)



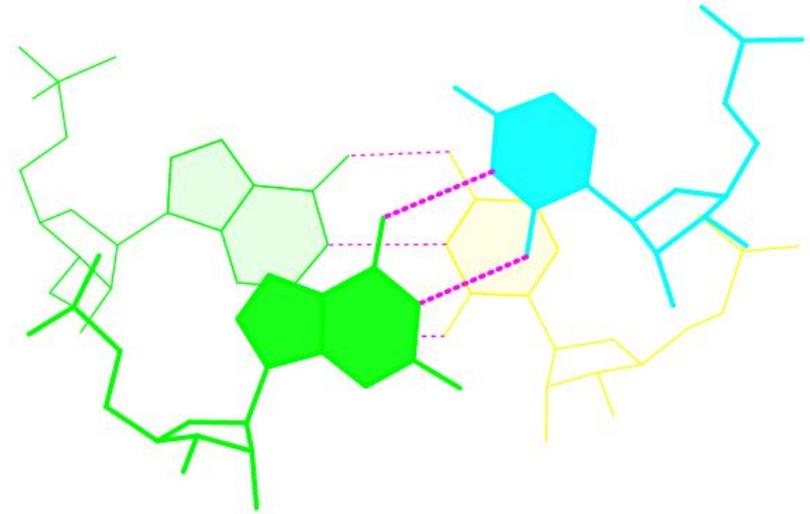
Тимин ::: Аденин
(две водородные связи)



Все основания цепей ДНК расположены внутри двойной спирали, а пентозофосфатный остов - снаружи. Полинуклеотидные цепи удерживаются относительно друг друга за счёт водородных связей между комплементарными пуриновыми и пиримидиновыми азотистыми основаниями А и Т (две связи) и между G и C (три связи). При таком сочетании каждая пара содержит по три кольца, поэтому общий размер этих пар оснований одинаков по всей длине молекулы. Водородные связи при других сочетаниях оснований в паре возможны, но они значительно слабее. Комплементарные основания уложены в стопку в сердцевине спирали. Между основаниями двухцепочечной молекулы в стопке возникают **гидрофобные взаимодействия (стекинг-взаимодействия)**, стабилизирующие двойную спираль.

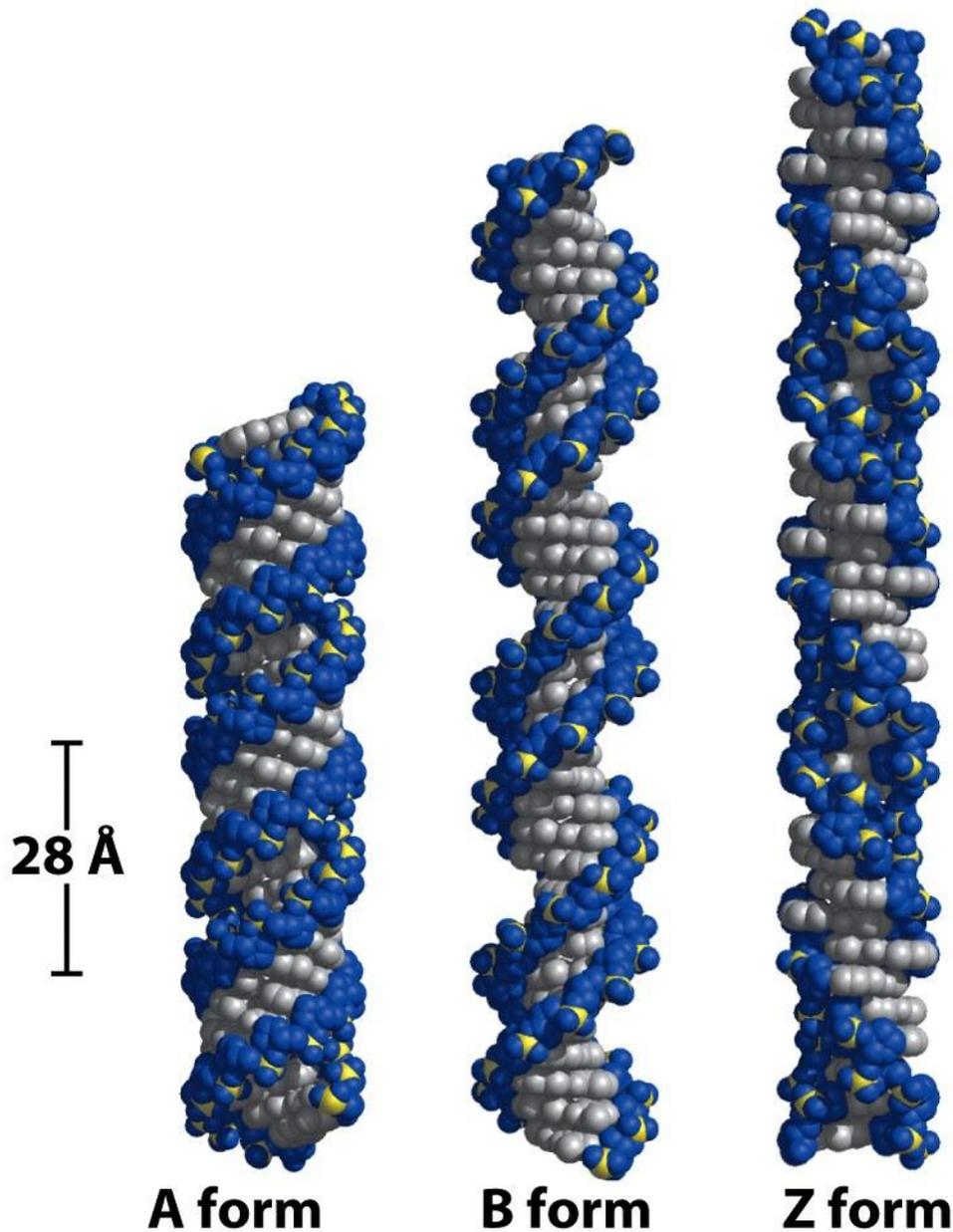


наибольшее перекрывание



наименьшее перекрывание

Комплементарные основания обращены внутрь молекулы, лежат в одной плоскости, которая практически перпендикулярна оси спирали. В результате образуется стопка оснований, между которыми возникают гидрофобные взаимодействия, обеспечивающие основной вклад в стабилизацию структуры спирали.



A form

B form

Z form

Существует несколько форм **правозакрученной** двойной спирали ДНК. В клетке ДНК чаще всего находится в **В-форме**, в которой на один виток спирали приходится до 10 пар нуклеотидов. В **А-форме** на 1 виток приходится 11 пар нуклеотидов, а в **С-форме** – 9,3 пар нуклеотидов. Цепи ДНК образуют 2 желоба - малую и большую борозды. Считается, что в А-форме ДНК принимает участие в процессах транскрипции, а в В-форме – в процессах репликации. Кроме правозакрученной спирали существует одна левая спираль ДНК - (**Z-форма**), в которой на один виток приходится 12 пар нуклеотидов.

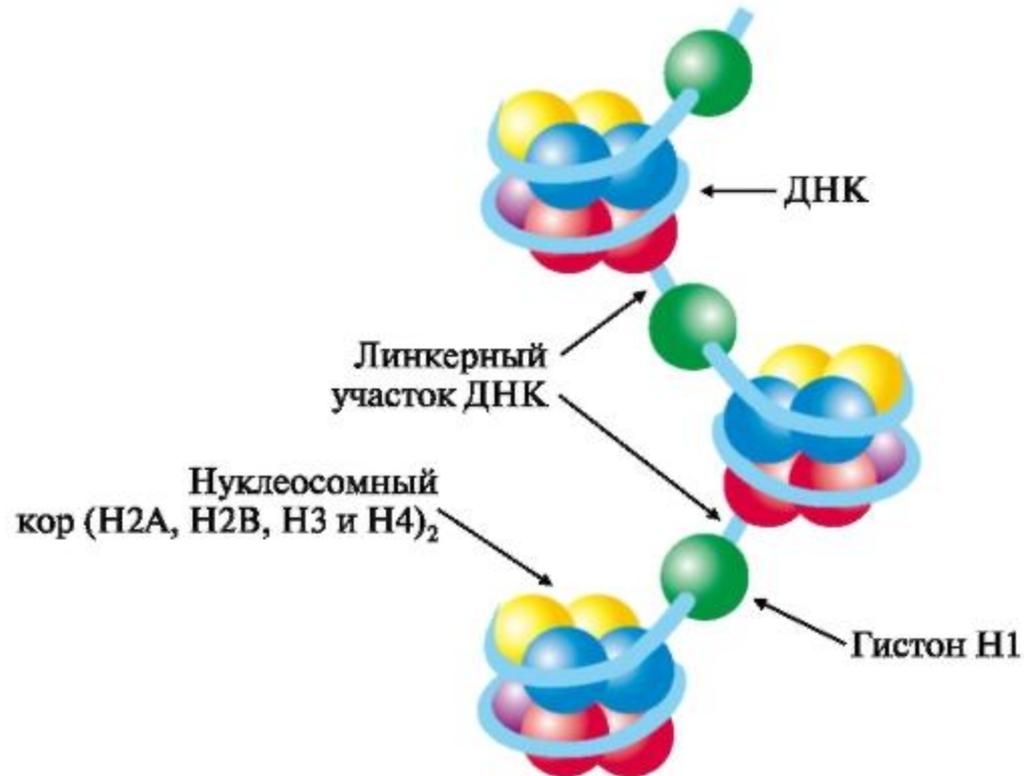
Figure 8-17 part 1

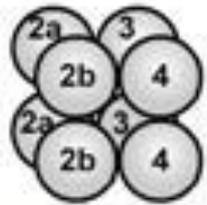
Третичная структура ДНК формируется при ее взаимодействии с белками. Каждая молекула ДНК упакована в отдельную хромосому, в составе которой разнообразные белки связываются с отдельными участками ДНК и обеспечивают суперспирализацию и компактизацию молекулы. Общая длина ДНК гаплоидного набора из 23 хромосом человека составляет $3,5 \times 10^9$ пар нуклеотидов. Хромосомы образуют компактные структуры только в фазе деления. В период покоя комплексы ДНК с белками равномерно распределены по объему ядра, образуя хроматин. Белки хроматина делят на две группы: гистоны и негистоновые белки.

Гистоны - это небольшие белки с высоким содержанием положительно заряженных аминокислот лизина и аргинина. Они взаимодействуют с отрицательно заряженными фосфатными группами ДНК длиной около 146 нуклеотидных пар, образуя **нуклеосомы**. Между нуклеосомами находится участок ДНК, включающий около 30 нуклеотидных пар, - линкерный участок, к которому также присоединяется молекула гистона.

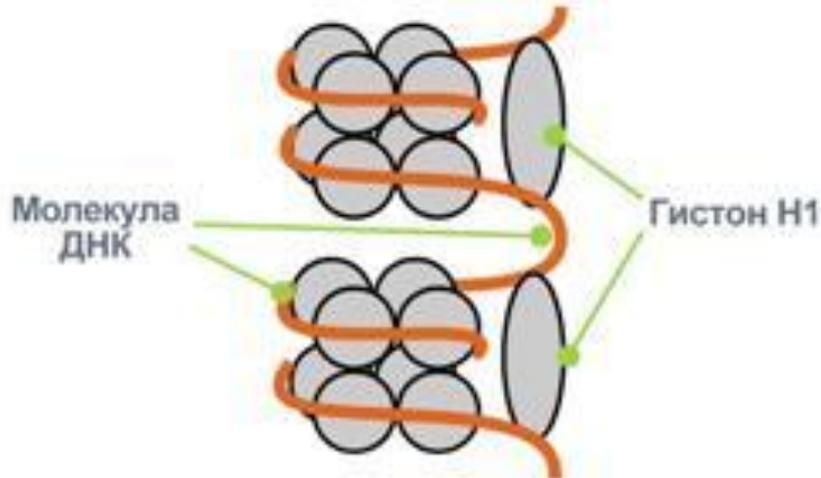
Негистоновые белки

представлены множеством ферментов и белков, участвующих в синтезе ДНК и РНК, регуляции этих процессов, а также структурных белков, обеспечивающих компактизацию ДНК.

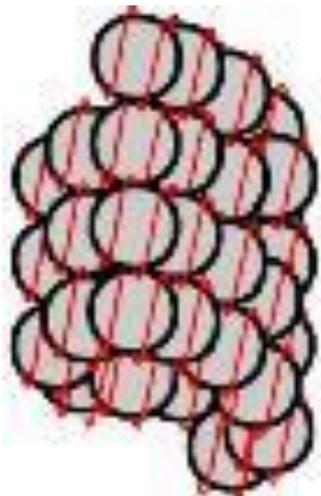




Нуклеосома,
содержащая
8 молекул
гистонов –
по 2 молекулы
Н2а, Н2b, Н3,Н4.



Взаимодействие гистонов и ДНК



○
Нуклеосомы

~
ДНК

Участок суперспирали ДНК

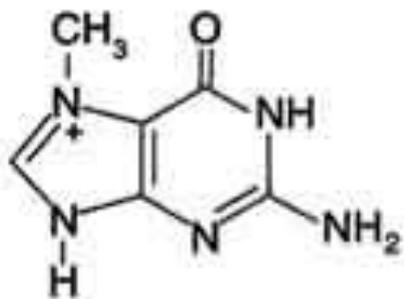
Пространственная структура РНК

Вторичная структура РНК формируется в результате спирализации отдельных участков одноцепочечной РНК. В спирализованных участках или **шпильках** комплементарные пары азотистых оснований А и У, Г и С соединяются водородными связями. Длина спирализованных участков невелика, содержит от 20 до 30 нуклеотидных пар. Эти участки чередуются с неспирализованными участками молекулы.

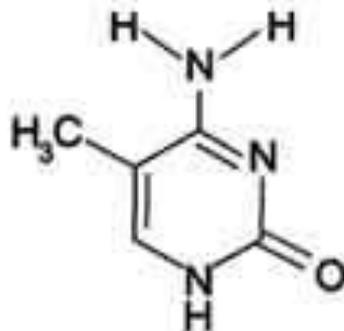
Третичная структура РНК формируется за счет образования дополнительных водородных связей между нуклеотидами, полинуклеотидной цепью и белками, стабилизируется ионами Mg^{2+} и обеспечивает дополнительную компактизацию и стабилизацию пространственной структуры молекулы.

Минорные основания входят в состав **10%** от всех нуклеотидов. Обнаружено до **50** разновидностей. Встречаются в **т-РНК**, **р-РНК** и **митохондриальной ДНК**.

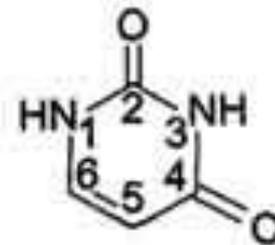
Минорные основания выполняют 2 функции: они делают НК устойчивыми к действию нуклеаз и поддерживают определённую третичную структуру молекулы, так как не могут участвовать в образовании комплементарных пар, и препятствуют спирализации определённых участков в полинуклеотидной последовательности тРНК.



7-Метилгуанин



5-Метилцитозин

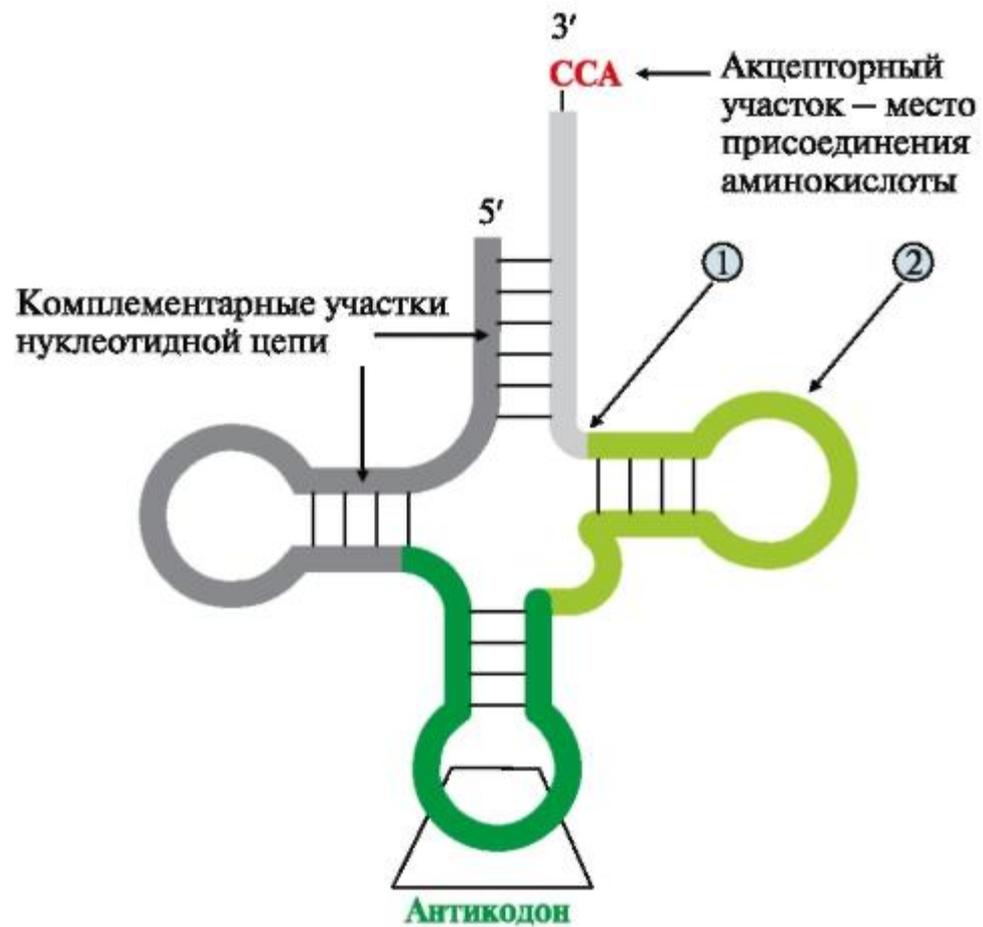


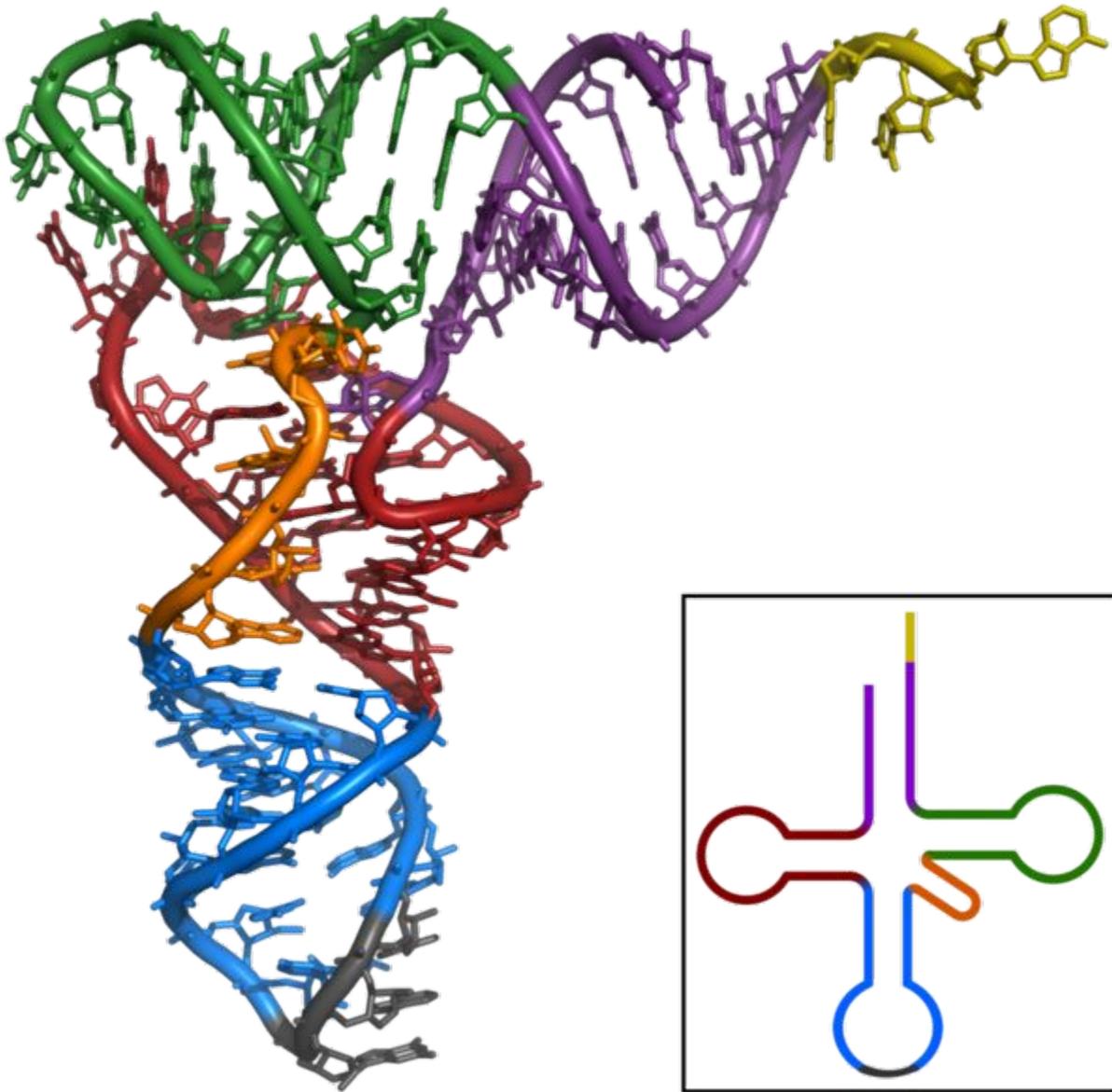
Псевдоурацил

Типы клеточной РНК в зависимости от функций.

	Вид РНК	Размер в нуклеотидах	Функции
1	Гетерогенный ядерные РНК (гяРНК)	10000-100000	Проматричные РНК, которые в дальнейшем превратятся в матричные РНК
2	Информационные или матричные РНК (иРНК или мРНК)	100-100000	Являются матрицами для синтеза белков
3	Транспортные РНК (тРНК)	70-90	Поставляют аминокислоты в ходе синтеза белков
4	Рибосомальные РНК (рРНК)	Несколько классов с размерами от 100 до 500000	Являются строительными блоками рибосом
5	Малые ядерные РНК (мяРНК)	100-300	Участвуют в упаковке рибопротеиновых частиц, сплайсинге и т.д.

Транспортные РНК (тРНК) являются молекулами-адапторами, у которых к 3'-концу присоединяется аминокислота, а участок антикодона - к мРНК. Семейство тРНК включает более 30 различных по первичной структуре молекул, состоящих примерно из 80 нуклеотидов. Особенностью тРНК является содержание 10-20% модифицированных или минорных нуклеотидов. Вторичная структура тРНК описывается как структура клеверного листа, где наряду с 70% спирализованных участков имеются одноцепочечные фрагменты, не участвующие в образовании водородных связей между нуклеотидными остатками. К ним, в частности, относят участок, ответственный за связывание с аминокислотой на 3'-конце молекулы и антикодон - специфический триплет нуклеотидов, взаимодействующий комплементарно с кодоном мРНК. На долю тРНК приходится около 15% всей РНК клетки.





Рибосомные РНК (рРНК) составляют около 80% всей РНК клетки и входят в состав рибосом. В цитоплазматические рибосомы эукариот входит 4 типа рРНК с разной константой седиментации (КС) - скоростью оседания в ультрацентрифуге (различают рРНК - 5S, 5,8S, 28S и 18S (S - коэффициент седиментации)). рРНК образуют комплексы с белками, которые называют рибосомами. Каждая рибосома состоит из двух субъединиц - малой (40S) и большой (60S). Комплекс большой и малой субъединиц рибосомы образует компактную частицу и имеет КС 80S.

Матричные РНК (мРНК), или информационные, составляют 2-4% всей РНК клетки. Они чрезвычайно разнообразны по первичной структуре, и их количество столь же велико, как и число белков в организме, так как каждая молекула мРНК является матрицей в синтезе соответствующего белка.

Отличия между РНК и ДНК:

- количество цепей: в РНК **одна** цепь, в ДНК **две** цепи,
- размеры: ДНК намного **крупнее**,
- локализация в клетке: ДНК находится в **ядре**, почти все РНК – **вне ядра**,
- вид моносахарида: в ДНК – **дезоксирибоза**, в РНК – **рибоза**,
- азотистые основания: в ДНК имеется **тимин**, в РНК – **урацил**.
- функция: ДНК отвечает за **хранение** наследственной информации, РНК – за ее **реализацию**.

Таким образом, нуклеотиды, монопнуклеотиды и олигонуклеотиды присутствуют в цитоплазме клеток и ее органеллах, выполняя определенные функции.

1. Структурная функция - участвуют в построении нуклеиновых кислот, некоторых коферментов и ферментов.

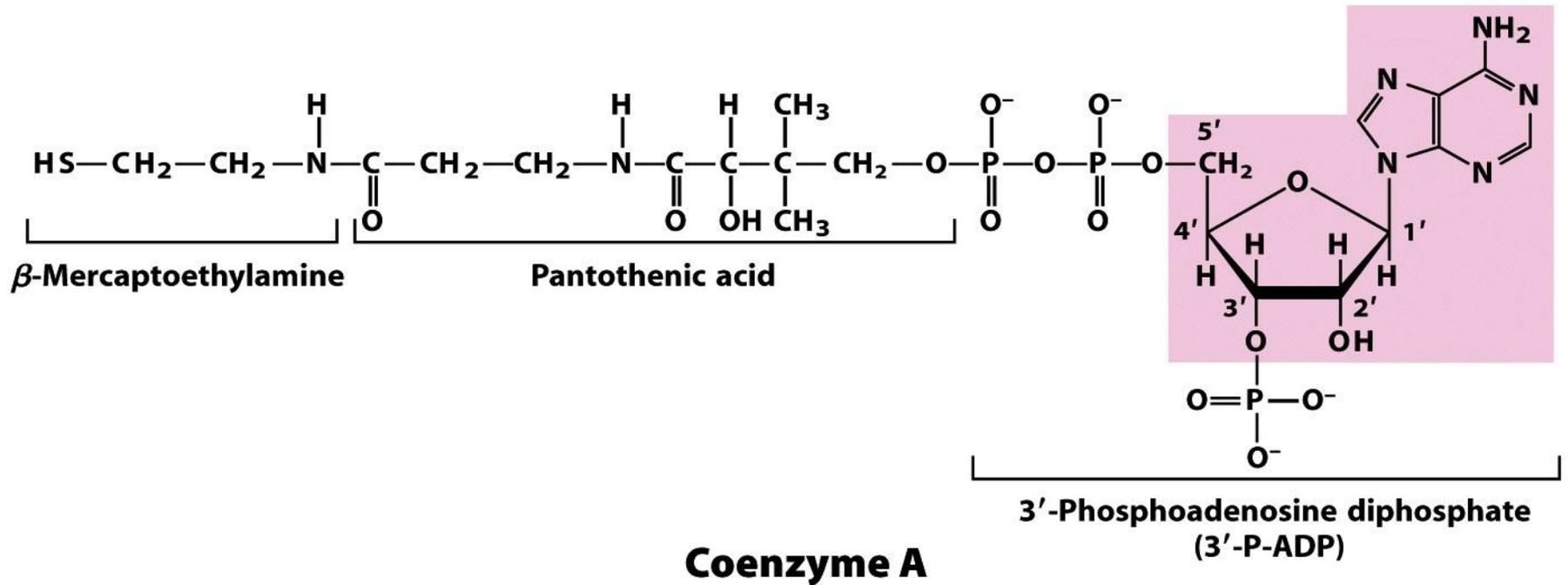
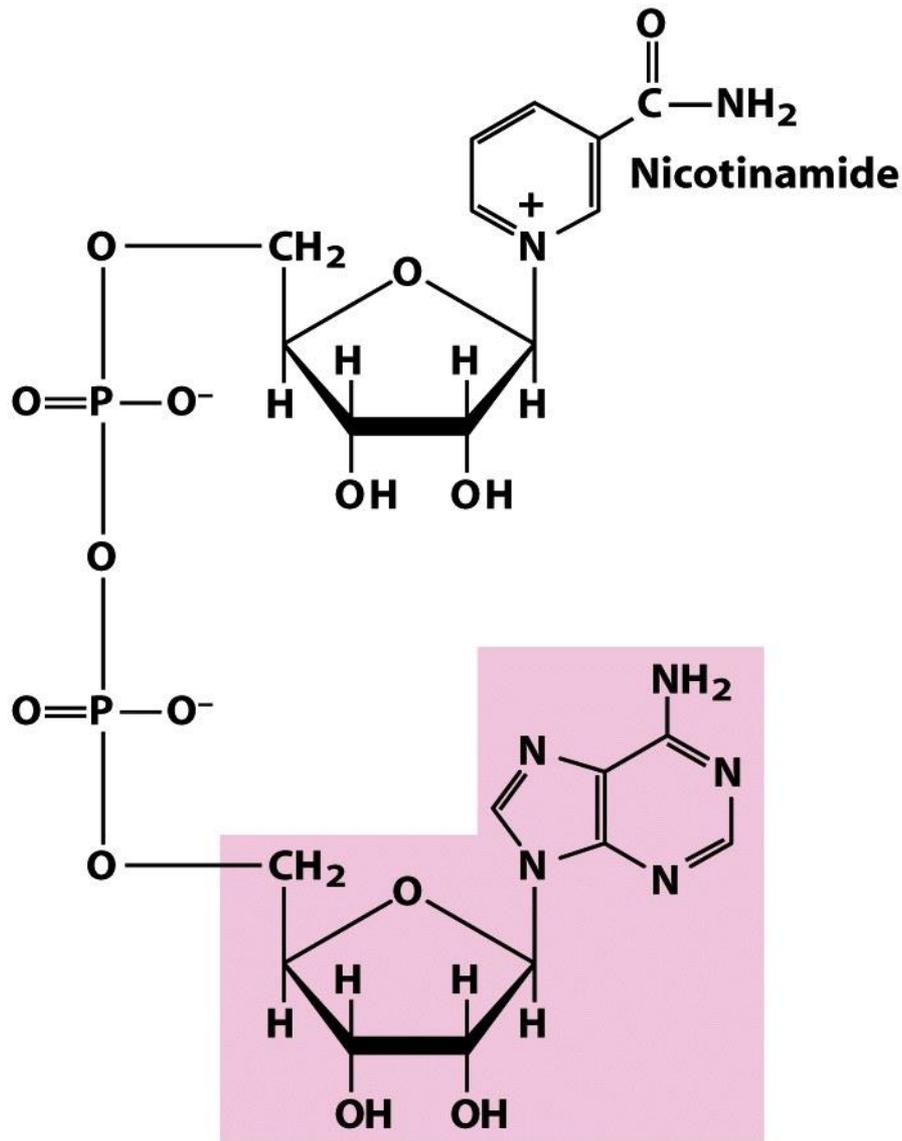


Figure 8-38 part 1

Lehninger Principles of Biochemistry, Fifth Edition

© 2008 W. H. Freeman and Company

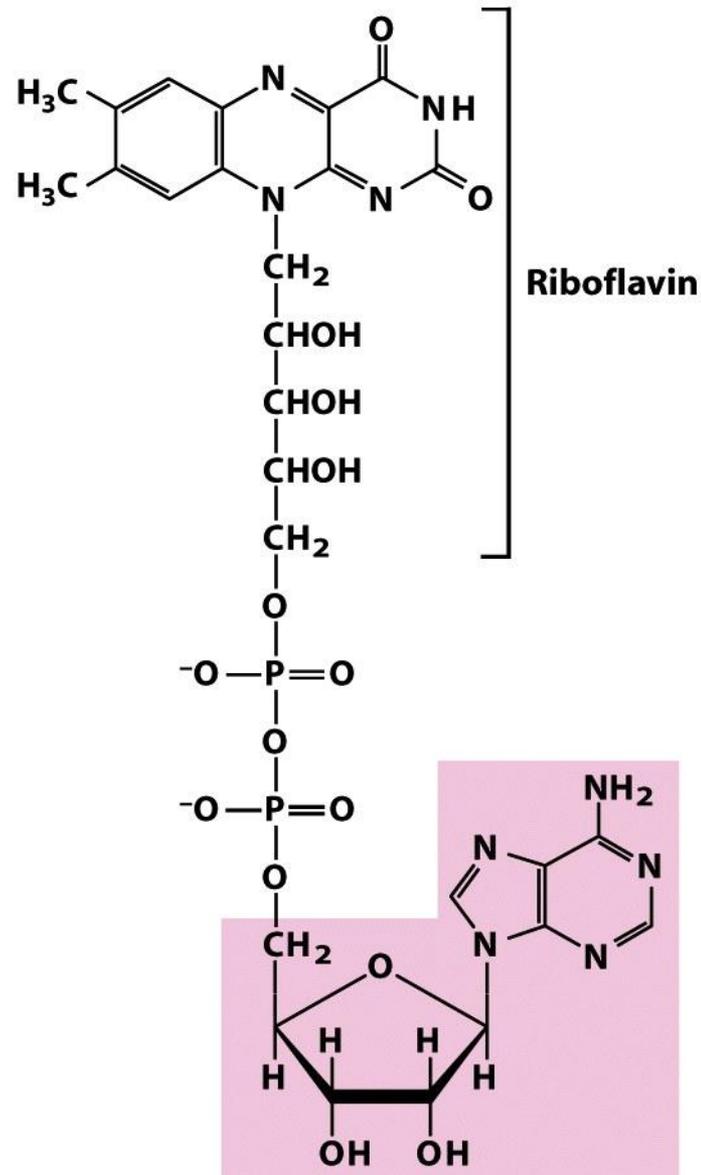


Nicotinamide adenine dinucleotide (NAD⁺)

Figure 8-38 part 2

Lehninger Principles of Biochemistry, Fifth Edition

© 2008 W. H. Freeman and Company



Flavin adenine dinucleotide (FAD)

Figure 8-38 part 3

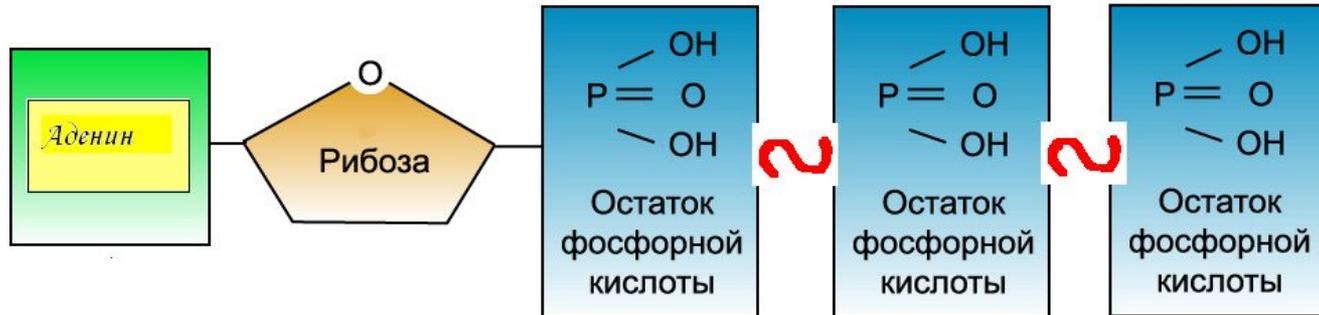
Lehninger Principles of Biochemistry, Fifth Edition

© 2008 W. H. Freeman and Company

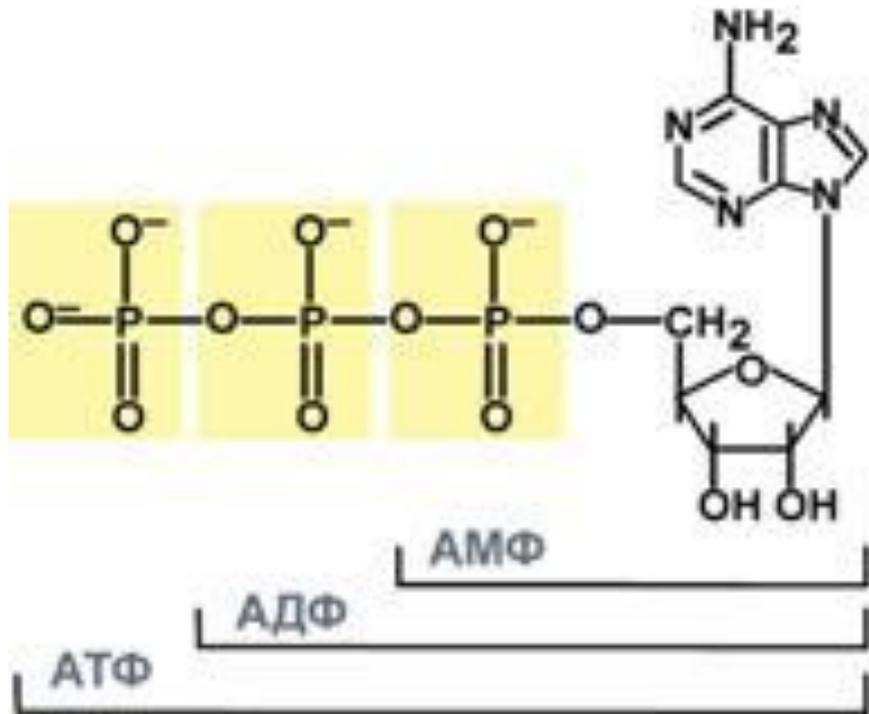
2. Энергетическая.

Макроэнергетические молекулы (макроэнергии) — биологические молекулы, которые способны накапливать и передавать энергию в ходе реакции. При гидролизе одной из связей высвобождается **более 20 кДж/моль** в отличие от простой связи, энергия которой составляет около 13 кДж/моль.

Все нуклеозидтрифосфаты и нуклеозиддифосфаты (АТФ, ГДФ и их аналоги) содержат одну или две **фосфоангидридные связи**, энергия каждой из них составляет 32 кДж/моль.



Макроэргические связи



При отщеплении от молекулы АТФ (ГТФ и т.д.) одного или двух остатков фосфорной кислоты образуется соответственно молекула АДФ (аденозиндифосфат) или АМФ (аденозинмонофосфат).

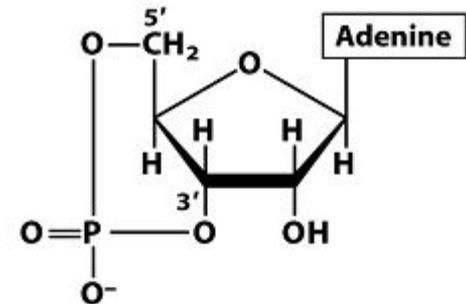
Наличие макроэргических связей в нуклеотидах позволяет им являться активаторами и переносчиками мономеров в клетке:

- УТФ - уридин трифосфорная кислота используется для синтеза гликогена,
- ЦТФ - цитидинтрифосфорная кислота - для синтеза липидов,
- ГТФ гуанозинтрифосфат - для движения рибосом в ходе трансляции (биосинтез белка) и передачи гормонального сигнала (G-белок).

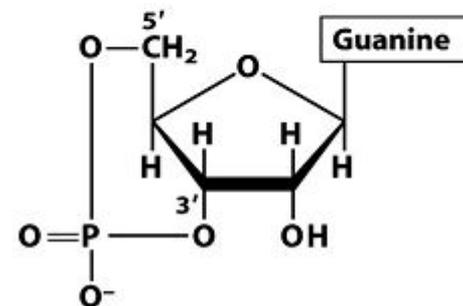
3. Регуляторная.

— Мононуклеотиды - аллостерические эффекторы многих ключевых ферментов,
— цАМФ и цГМФ являются посредниками в передаче гормонального сигнала при действии многих гормонов на клетку (аденилатциклазная система), они активируют протеинкиназы.

Таким образом, нуклеотиды и нуклеиновые кислоты выполняют решающие функции по поддержанию гомеостаза организма.



Adenosine 3',5'-cyclic monophosphate
(cyclic AMP; cAMP)



Guanosine 3',5'-cyclic monophosphate
(cyclic GMP; cGMP)