

Биохимия

Нуклеиновые кислоты

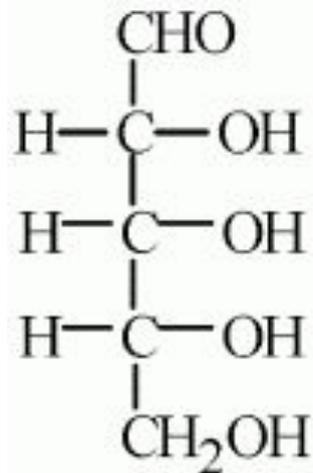
Нуклеиновые кислоты

Нуклеиновые кислоты представляют собой полимерные молекулы, в состав которых входят азотистые основания пяти типов, пентозы двух типов и остатки фосфорной кислоты.

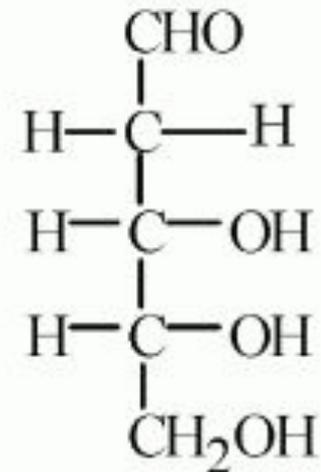
- Азотистые основания в нуклеиновых кислотах могут быть пуриновыми (**аденин, гуанин**) и пиримидиновыми (**цитозин, урацил** (только в РНК), **тимин** (только в ДНК)).
- В зависимости от строения углевода выделяют **рибонуклеиновые кислоты** – содержат рибозу (РНК), и **дезоксирибонуклеиновые кислоты** – содержат дезоксирибозу (ДНК).

Рибоза и дезоксирибоза

Дезоксирибоза отличается от рибозы отсутствием в молекуле одной гидроксильной группы (оксигруппы), которая заменена атомом водорода. Отсюда и произошло название вещества (дезоксирибоза):



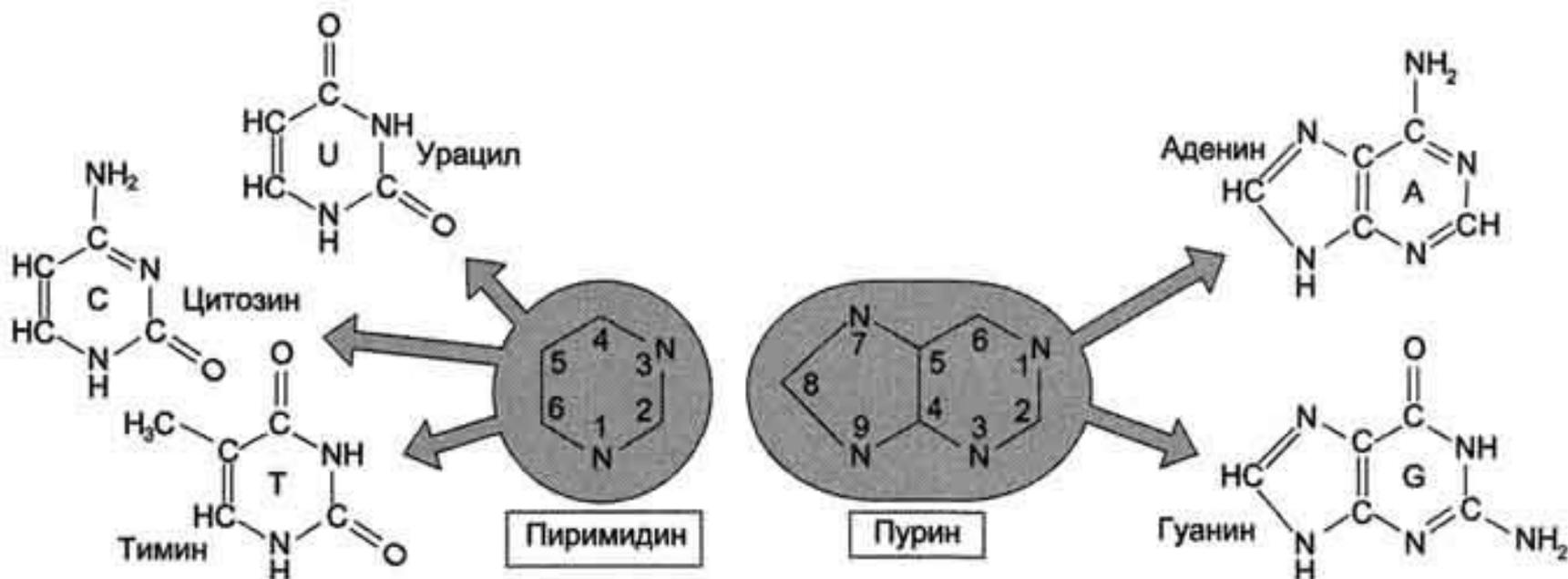
рибоза



дезоксирибоза

Азотистые основания

Пять азотистых оснований являются производными двух гетероциклов пиримидина (6-членный цикл) и пурина (двойной гетероцикл):



Нуклеотиды

Нуклеиновые кислоты являются полимерными молекулами и состоят из мономеров, называемых нуклеотидами.

Нуклеотид содержит фосфорную кислоту (один, два или три остатка), сахар (рибозу или дезоксирибозу), азотистое основание пуринового ряда (аденин, гуанин) или пиримидинового ряда (цитозин, урацил).



Нуклеотиды

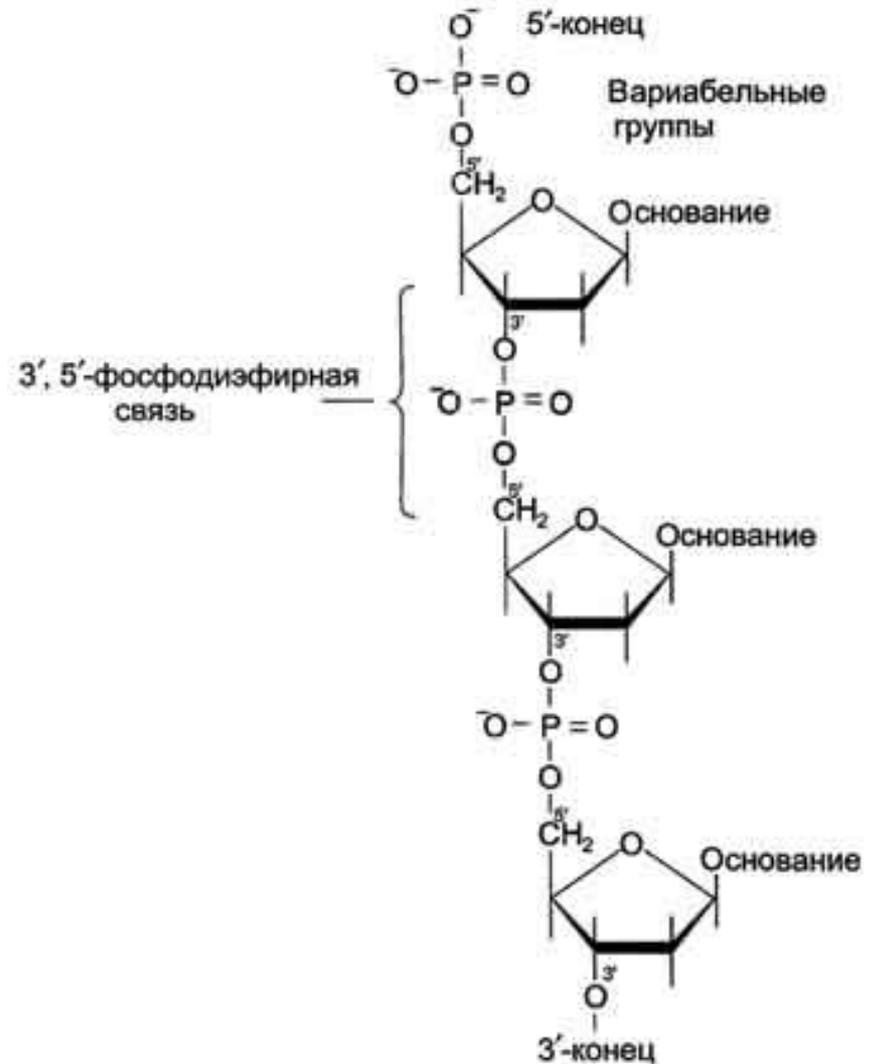
Остов нуклеиновой кислоты имеет одинаковое строение по всей длине молекулы и состоит из чередующихся групп «-пентоза-фосфат-пентоза-».

Вариабельными группами в полинуклеотидных цепях служат азотистые основания - пурины и пиримидины:

- В молекулы РНК входят аденин (А), урацил (U), гуанин (G) и цитозин (С),
- В ДНК - аденин (А), тимин (Т), гуанин (G) и цитозин (С).

Остов молекулы ДНК

Порядок, в котором соединяются нуклеотиды в ДНК называется её первичной структурой.



Первичная структура

Каждая фосфатная группа в полинуклеотидной цепи, за исключением фосфорного остатка на 5'-конце молекулы, участвует в образовании двух эфирных связей с участием 3'- и 5'-углеродных атомов двух соседних дезоксирибоз, поэтому связь между мономерами обозначают 3', 5'-фосфодиэфирной.

Концевые нуклеотиды ДНК различают по структуре: на 5'-конце находится фосфатная группа, а на 3'-конце цепи - свободная ОН-группа. Эти концы называют 5'- и 3'-концами. Линейная последовательность дезоксирибонуклеотидов в полимерной цепи ДНК обычно сокращённо записывают с помощью однобуквенного кода, например -A-G-C-T-T-A-C-A- от 5'- к 3'-концу.

Вторичная структура

В 1953 г. Дж. Уотсоном и Ф. Криком была предложена модель пространственной структуры ДНК.

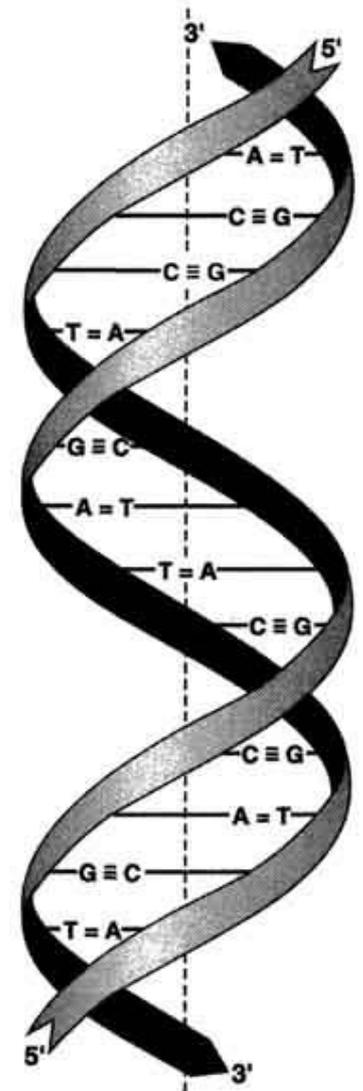
Согласно этой модели, молекула ДНК имеет форму спирали, образованную двумя полинуклеотидными цепями, закрученными относительно друг друга и вокруг общей оси.

Одна из цепей ориентирована в направлении $3' \rightarrow 5'$, то вторая - в направлении $5' \rightarrow 3'$. Поэтому на каждом из концов присутствует $5'$ -конец одной цепи и $3'$ -конец другой.

Вторичная структура ДНК

Молекулы ДНК состоят из двух антипараллельных цепей с комплементарной последовательностью нуклеотидов.

Цепи закручены относительно друг друга в правозакрученную спираль так, что на один виток приходится примерно 10 пар нуклеотидов.



Азотистые основания в ДНК

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.

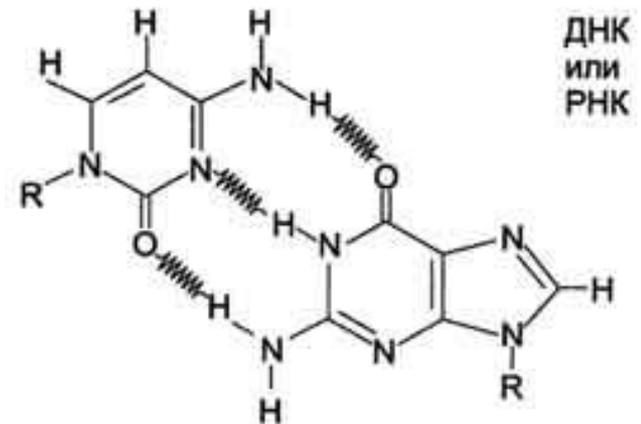
Образование водородных связей

Водородные связи при других сочетаниях оснований в паре возможны, но они значительно слабее.

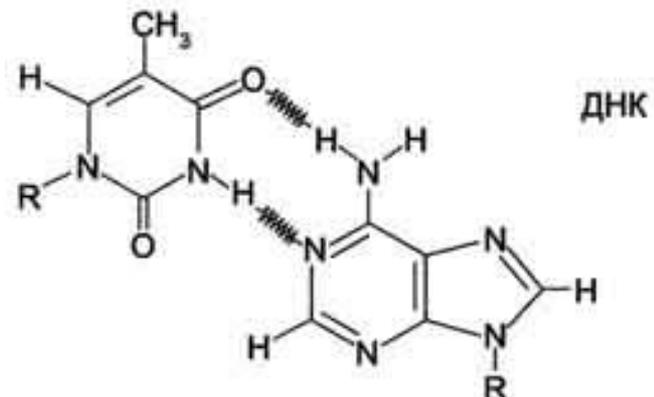
Последовательность нуклеотидов одной цепи полностью комплементарна последовательности нуклеотидов второй цепи.

Благодаря комплементарности цепочек ДНК возможно их восстановление после денатурации и гибридизация.

Цитозин ::: Гуанин
(три водородные связи)

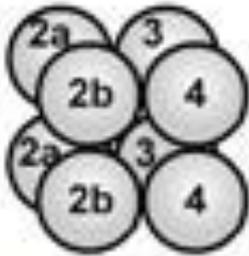


Тимин ::: Аденин
(две водородные связи)

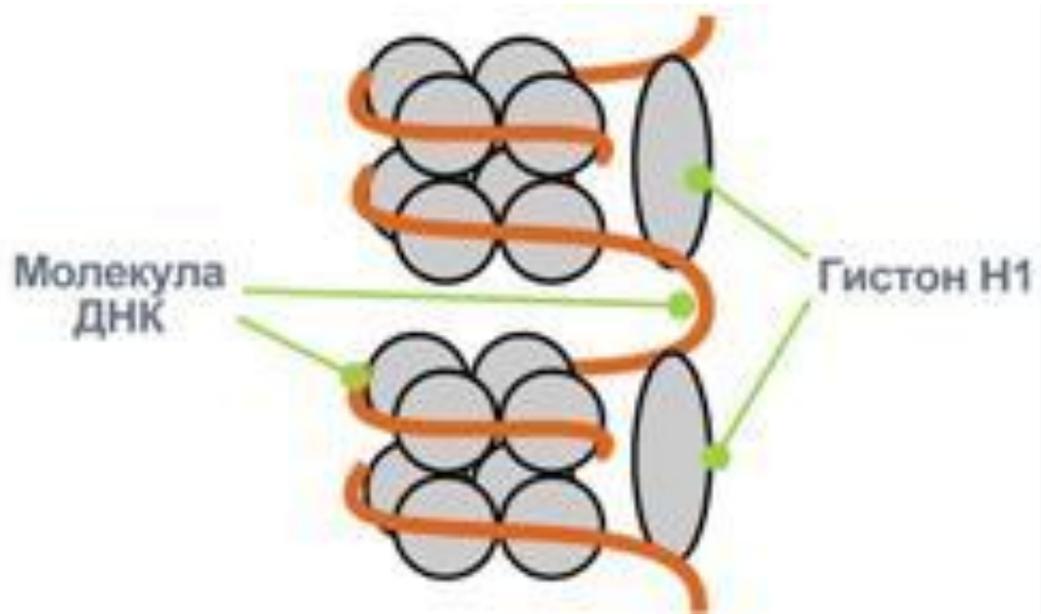


Трети́чная структура ДНК

Трети́чная структура ДНК формируется за счет белков гистонов и нуклеопротеинов. Спираль ДНК обвивает 2,5 раза молекулу белкового комплекса, состоящего из 8 гистонов (октамерный белок) и через гистон Н1 связывается со следующей нуклеосомой.

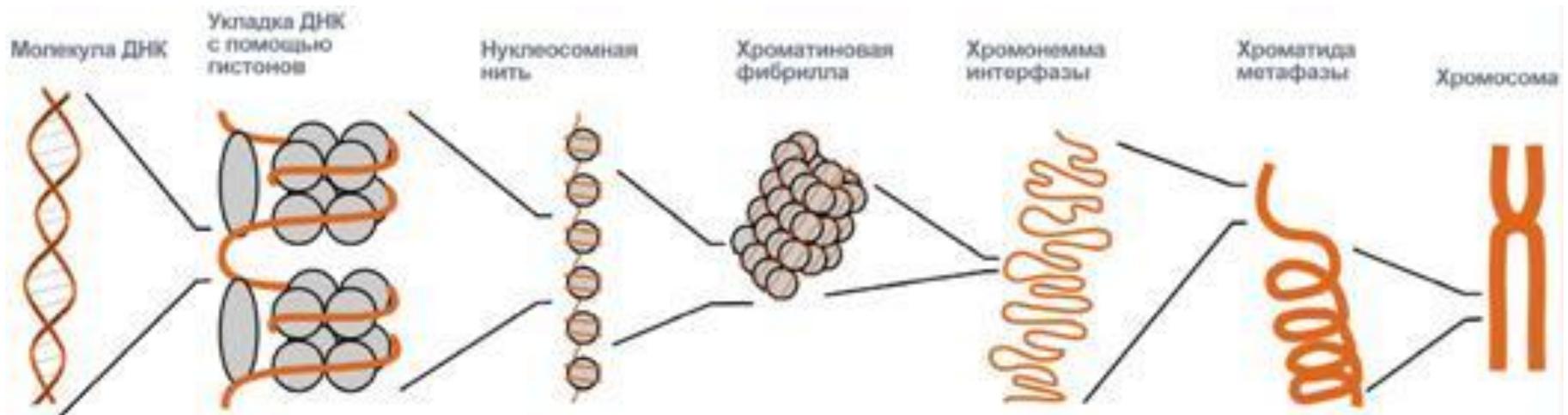


Нуклеосома, содержащая 8 молекул гистонов — по 2 молекулы Н2а, Н2b, Н3, Н4.



Третьичная структура ДНК

Затем с помощью нуклеопротеинов нуклеосомная нить структурируется в хромосому:



Первичная структура РНК

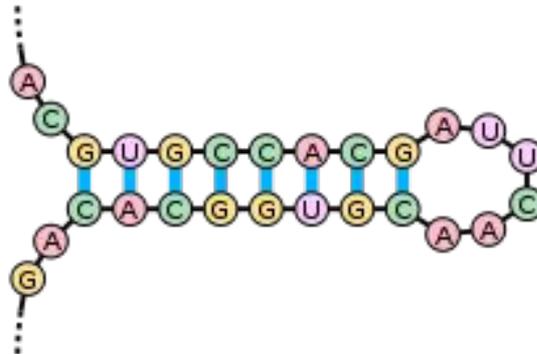
Аналогично первичной структуре ДНК первичная структура РНК определяется последовательностью рибонуклеозидмонофосфатов.

На одном конце находится фосфорилированная ОН-группа 5'-углеродного атома, на другом конце - ОН-группа 3'-углеродного атома рибозы.

Гидроксильная группа у 2'-углеродного атома рибозы делает молекулу РНК нестабильной. Так, в слабощелочной среде молекулы РНК гидролизуются даже при нормальной температуре, тогда как структура цепи ДНК не изменяется.

Вторичная структура РНК

Молекулы РНК в отличие от ДНК построены из одной полинуклеотидной цепи. Однако в этой цепи имеются комплементарные друг другу участки, которые могут взаимодействовать, образуя двойные спирали. При этом соединяются нуклеотидные пары А-У и G-С. Такие спирализованные участки (их называют шпильками) обычно содержат небольшое число нуклеотидных пар, в пределах двух-трех десятков, и чередуются с неспирализованными участками:



Третичная структура РНК

Одноцепочечные РНК характеризуются компактной и упорядоченной третичной структурой, возникающей путём взаимодействия спирализованных элементов вторичной структуры.

Так, возможно образование дополнительных водородных связей между нуклеотидными остатками, достаточно удалёнными друг от друга, или связей между ОН-группами остатков рибозы и основаниями.

Третичная структура РНК стабилизирована ионами двухвалентных металлов, например ионами Mg^{2+} , связывающимися не только с фосфатными группами, но и с основаниями.

Основные типы РНК

В цитоплазме клеток присутствуют 3 типа рибонуклеиновых кислот:

- Транспортные РНК (тРНК),
- Матричные РНК (мРНК) и
- Рибосомальные РНК (рРНК).

Они различаются по первичной структуре, молекулярной массе, конформации, продолжительности жизни и, самое главное, по функциональной активности.

Денатурация ДНК

Вторичная структура нуклеиновых кислот образуется за счёт слабых взаимодействий - водородных и гидрофобных. Если нагреть раствор ДНК выше температуры 90°C или сдвинуть рН в резко щелочную или резко кислую стороны, то водородные связи между нитями ДНК разрушаются и двойная спираль расплетается. Происходит **денатурация ДНК** или, по-другому, **плавление**.

Если удалить агрессивный фактор, то происходит **ренатурация (отжиг, ренативация)**. При отжиге нити ДНК "отыскивают" комплементарные участки друг у друга и, в конце концов, вновь сворачиваются в двойную спираль.

Гибридизация

На явлении денатурации и ренативации основан метод, называемый "**молекулярная гибридизация**".

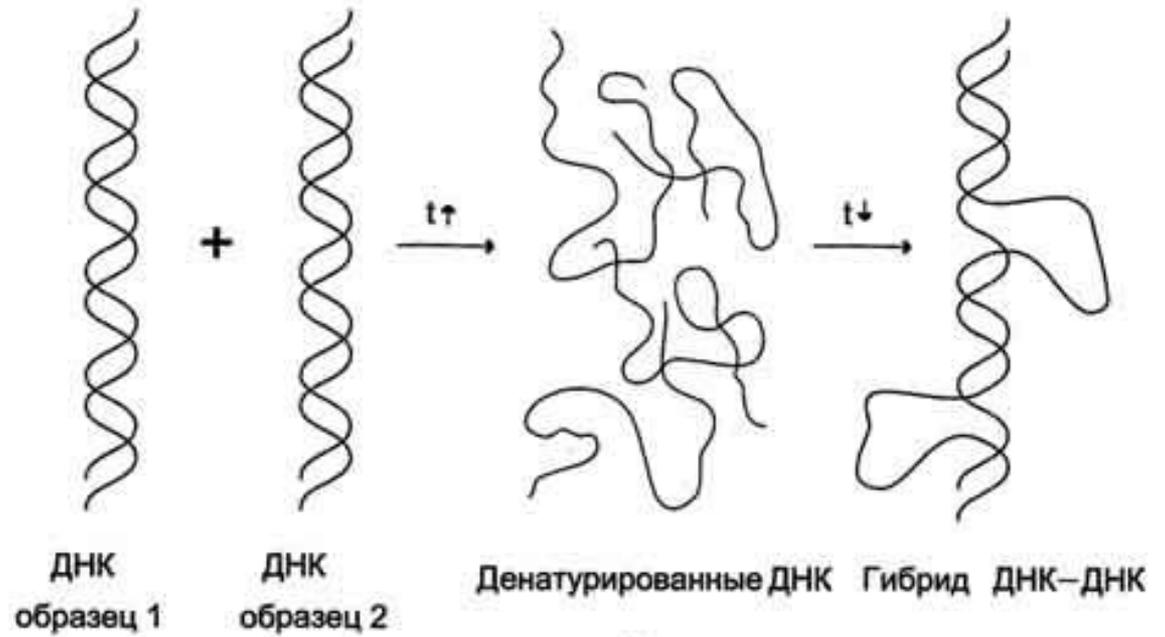
Процесс гибридизации может осуществляться между двумя любыми цепями нуклеиновых кислот (ДНК-ДНК, ДНК-РНК) при условии, что они содержат комплементарные последовательности нуклеотидов. Такие гибридные структуры можно выделить центрифугированием или наблюдать в электронном микроскопе.

Гибридизация

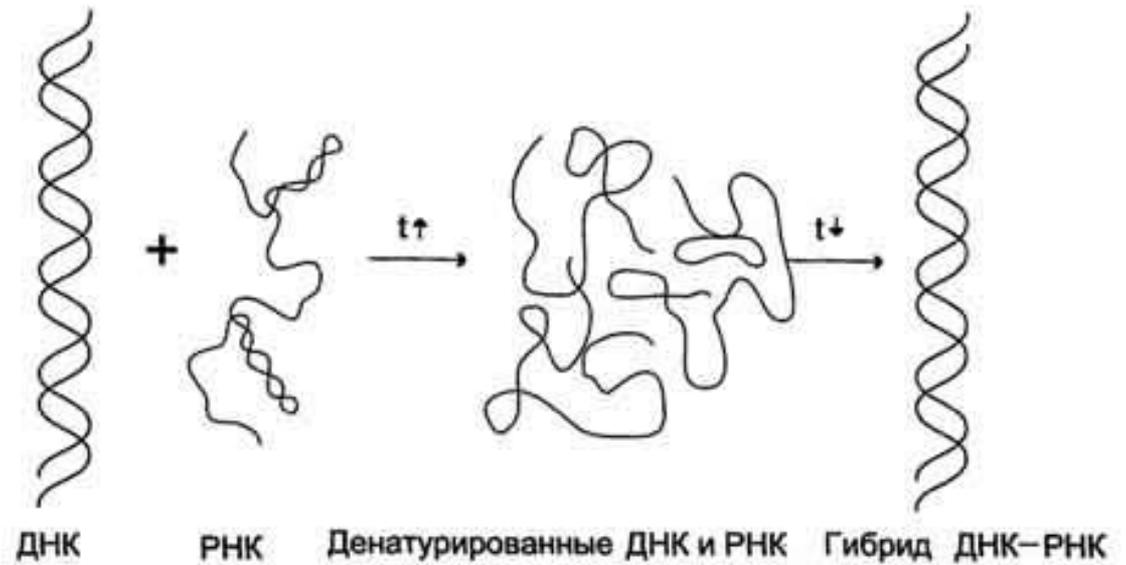
Если раствор, содержащий образцы ДНК 1 и 2, выделенные из организмов разных видов, денатурировать, а затем провести ренативацию, то образуются исходные двухспиральные структуры.

Но наряду с исходными ДНК 1 и ДНК 2 образуются гибридные двойные спирали, содержащие цепь ДНК образца 1 и цепь ДНК образца 2, где присутствуют как спирализованные, так и неспирализованные участки. В неспирализованных участках фрагменты цепей ДНК не комплементарны, т.е. в ходе гибридизации получаются несовершенные гибриды.

Схема гибридизаци и



А



Б

Гибридизация

Методом молекулярной гибридизации можно установить:

- сходство и различие первичной структуры разных образцов нуклеиновых кислот;
- различие ДНК, выделенных из организмов разных видов;
- идентичность ДНК всех органов и тканей одного организма.