

БИОХИМИЯ НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ



Тамбовцева Р.В.
Д.б.н., профессор
РГУФКСМиТ
Москва

БИОХИМИЯ НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ

Явление передачи наследственной информации из поколения в поколение связано с нуклеиновыми кислотами.

Впервые нуклеиновые кислоты были выделены швейцарским врачом Ф.Мишером (1868 г.) из ядер клеток и названы нуклеинами (от лат.nucleus – ядро). Ф.Мишер определил, что в состав нуклеина входят атомы углерода, водорода, кислорода, азота и фосфора. В 1889 г. Р.Альтман показал, что нуклеин имеет кислые свойства и предложил назвать эти соединения нуклеиновыми кислотами.

Нуклеиновые кислоты имеют более сложную структуру, чем белки. Мт – несколько десятков или сотен миллионов. Нуклеиновые кислоты – это генетический материал живых клеток.

Нуклеиновые кислоты – это высокомолекулярные соединения, состоящие из большого количества связанных между собой нуклеотидов.

ХИМИЧЕСКИЙ СОСТАВ НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ

При полном гидролизе нуклеиновых кислот образуется несколько простых низкомолекулярных органических веществ: азотистые основания, углеводы, молекулы фосфорной кислоты.

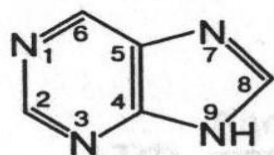
АЗОТИСТЫЕ ОСНОВАНИЯ – это производные гетероциклического азотосодержащего соединения **ПУРИНА и ПИРИМИДИНА**. К пуриновым основаниям относятся аденин (А) и гуанин (Г), к пиримидиновым основаниям относятся – цитозин (Ц), тимин (Т) и урацил (У). Их молекулы различаются наличием определенных функциональных групп: - NH_2 , -ОН, - CH_3 .

Из пяти азотистых оснований каждая нуклеиновая кислота включает только четыре – два пуриновых и два пиримидиновых.

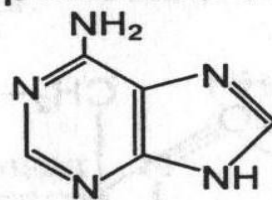
Углеводный компонент нуклеиновых кислот – моносахариды: рибоза и дезоксирибоза. Фосфорная кислота входит в состав всех нуклеиновых кислот в большом количестве.

ОСНОВНЫЕ СОСТАВЛЯЮЩИЕ НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ: АЗОТИСТЫЕ ОСНОВАНИЯ И УГЛЕВОДЫ ИЗ КЛАССА ПЕНТОЗ

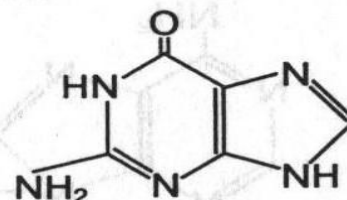
Пуриновые основания



Пурин

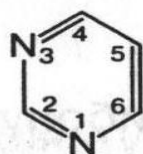


Аденин
(6-аминопурин)

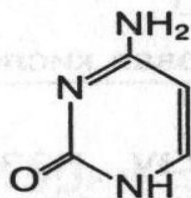


Гуанин
(2-амино-6-оксипурин)

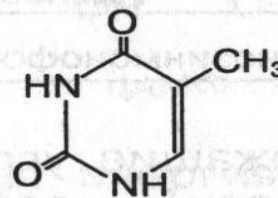
Пиримидиновые основания



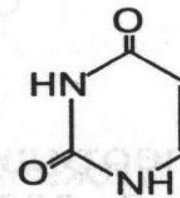
Пиримидин



Цитозин
(2-окси-6-ами-
нопиримидин)

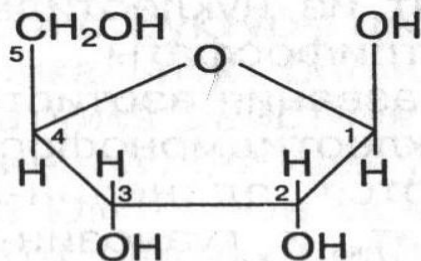


Тимин
(2,6-диокси-5-
метилпиримидин)

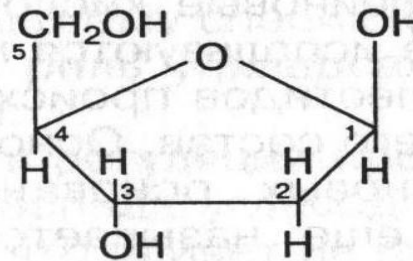


Урацил
(2,6-диоксипи-
римидин)

Углеводы



D-рибоза



D-дезоксирибоза

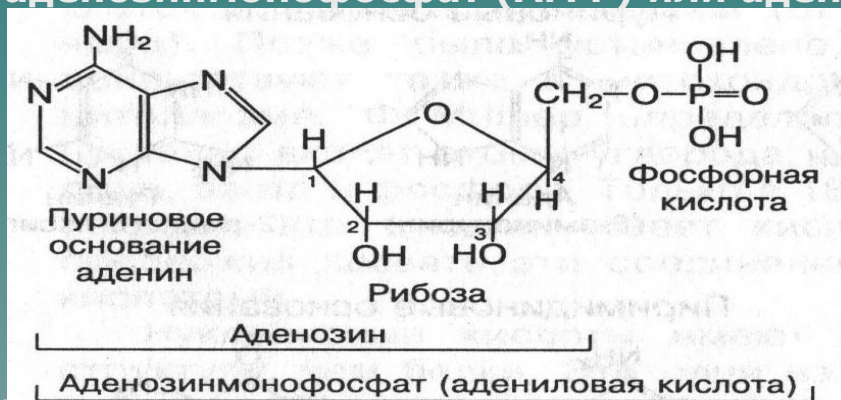
НУКЛЕОЗИДЫ И НУКЛЕОТИДЫ

При неполном гидролизе нуклеиновых кислот образуются нуклеозиды и молекулы фосфорной кислоты, а также нуклеотиды.

НУКЛЕОЗИД – это органические вещества, в состав которых входит пентоза и гетероциклическое азотистое основание.

Структурной единицей нуклеиновых кислот является нуклеотид. Нуклеотиды состоят из трех компонентов: пуринового или пиримидинового основания, углевода рибозы или дезоксирибозы, которые соединены между собой и составляют нуклеозид и остатка фосфорной кислоты, присоединенной к гидроксилу пятого атома углерода в молекуле углевода.

Пример нуклеотида : аденозинмонофосфат (АМФ) или адениловая кислота:

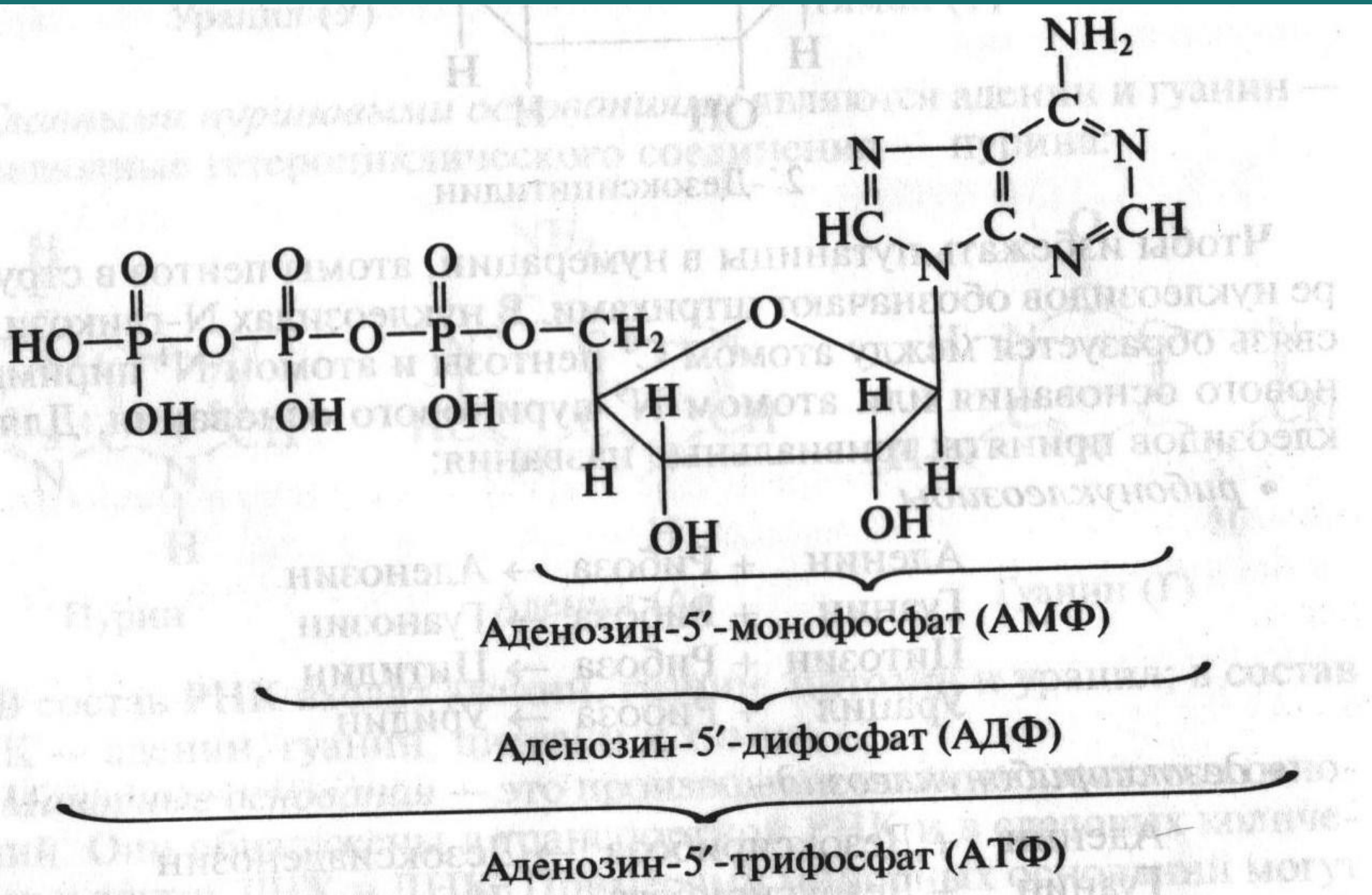


Основными нуклеотидмонофосфатами - производными пуриновых оснований являются аденозин-5-монофосфат (АМФ)(аденилат) и гуанозин-5-монофосфат (ГМФ) (гуанилат). Из них образуются нуклеотиддифосфаты и нуклеотидтрифосфаты (АТФ, ГТФ, АДФ, ГДФ)

Основными нуклеотидмонофосфатами – производными пиримидиновых оснований являются цитидин-5-монофосфат (ЦМФ) (цитидилат); уридин-5-монофосфат (УМФ) (уридилат); тимин-5-монофосфат (ТМФ) (тимидилат). Из них образуются нуклеотиддифосфаты и нуклеотидтрифосфаты (ЦТФ, УТФ, ТТФ).

Поскольку в состав нуклеотидов входят остатки фосфорной кислоты, они обладают кислотными свойствами и называются кислотами

Нуклеотиды именуют по названию соответствующего нуклеозида с указанием положения и числа фосфорильных групп. По числу фосфорильных групп нуклеотиды делят на моно-, ди- и трифосфаты:

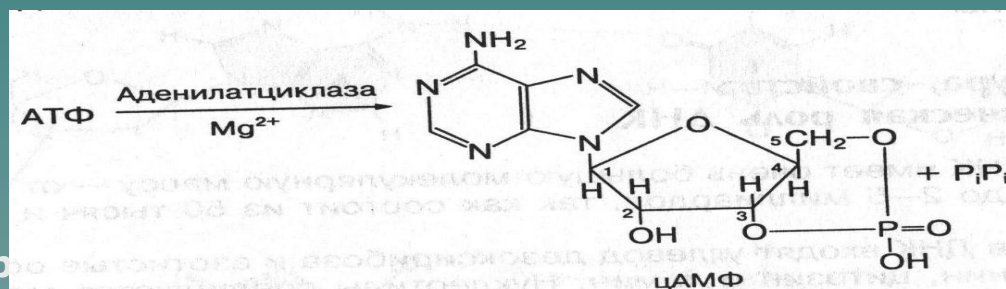


В химических связях молекул нуклеотидтрифосфатов между последним и предпоследним остатками фосфорной кислоты заключено много энергии. Такие связи называются **макроэргическими**, а нуклеозидтрифосфаты – **макроэргами**.

АТФ, ГТФ и другие нуклеотидтрифосфаты являются источниками энергии, в связях которых аккумулируется химическая энергия, используемая в организме в различных процессах жизнедеятельности.

ЦИКЛИЧЕСКИЕ НУКЛЕОТИДЫ – это фосфорные эфиры нуклеозидов. Впервые открыты американским ученым Е.САЗЕРЛЕНДОМ в 1957 г. Как «вторичные» передатчики действия гормонов на различные внутриклеточные обменные процессы. Образуются они из АТФ или других нуклеотидов под действием специфических ферментов – циклаз.

Пример: биосинтез циклического аденозинмонофосфата (цАМФ) протекает в клетках при участии фермента аденилатциклазы:



Для цАМФ характерны **углеродными атомами в рибозе**. При ее гидролизе выделяется около 59 кДж·моль⁻¹ энергии.

цАМФ – это универсальный внутриклеточный передатчик действия гормонов.

РОЛЬ циклических нуклеотидов:

1. Участвуют в регуляции процессов транспорта ионов через клеточные мембраны.
2. Участвуют в процессе распада углеводов и жиров
3. Регуляторная роль в процессах клеточной дифференцировки.

РОЛЬ НУКЛЕОТИДОВ В ОБМЕНЕ ВЕЩЕСТВ

1. Нуклеотиды используются для построения нуклеиновых кислот.
2. Выполняют важную роль в регуляции обмена веществ и энергии в различных органах и тканях.
3. Отдельные нуклеотиды входят в состав трех основных коферментов – НАД, ФАД, КоА – SH. Эти коферменты участвуют в превращениях углеводов, жиров, аминокислот и других веществ, а также в окислительно-восстановительных реакциях, связанных с энергообразованием.
4. Такие нуклеотиды, как АТФ, АДФ и др. являются универсальным источником энергии в организме.
5. Молекулы циклических нуклеотидов являются универсальными регуляторами обмена веществ.
6. Дезоксинуклеозидтрифосфаты (дАТФ, дГТФ, дЦТФ, дТТФ) используются в синтезе ДНК.
7. Рибонуклеозидтрифосфаты являются «строительными блоками» для синтеза РНК.
8. АТФ выполняет роль донора энергии в синтезе биологических молекул.
9. АТФ является донором фосфорильных групп в фосфотрансферазных реакциях.
10. АТФ принимает участие в синтезе нуклеотидных коферментов.
11. УТФ является коферментом в синтезе сложных углеводов.
12. ЦТФ является неизменным участником синтеза фосфатидов.
13. цАМФ и цГМФ являются универсальными регуляторами обмена веществ.

СТРОЕНИЕ НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ

ДНК – имеет большую молекулярную массу – от нескольких миллионов до 2-5 миллиардов, так как состоит из 50 тысяч и более нуклеотидов.

В состав ДНК входят: углевод дезоксирибоза и азотистые основания – АДЕНИН, ГУАНИН, ЦИТОЗИН, ТИМИН. Нуклеотиды соединены между собой 3', 5' – фосфодиэфирными связями, образуя полинуклеотидную цепь. Каждый нуклеотид в структуре полинуклеотидной цепи называют нуклеотидным остатком.

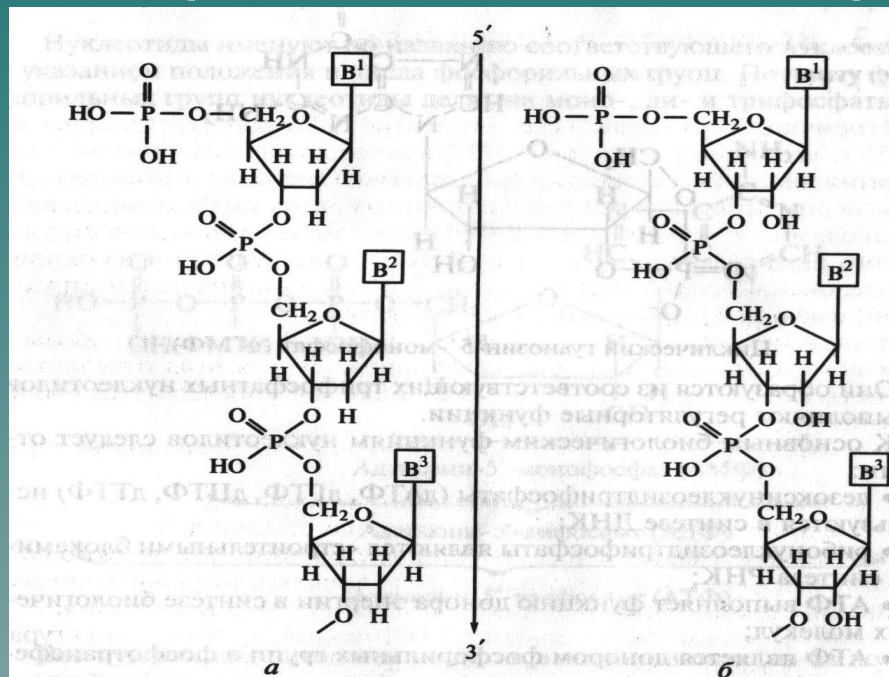


Рис. 3.1. Фрагмент молекулы ДНК (а) и РНК (б); B¹—B³ — азотистые основания

ПЕРВИЧНАЯ СТРУКТУРА нуклеотидных остатков в полинуклеотидной цепи. Варибельной частью в нуклеотидных остатках являются азотистые основания

Вторичная и третичная структуры ДНК

В 1953 г. Д.Уотсон и Ф.Крик открыли вторичную структуру ДНК. Методом рентгеноструктурного анализа установили, что ДНК состоит более чем из одной полидезоксирибонуклеотидной цепи и обладает спиральной структурой, имеющей определенные закономерности. Э.Чаргафф определил важные количественные соотношения отдельных азотистых оснований ДНК.

ПРАВИЛО ЧАРГАФФА:

1. Суммарное содержание пуриновых нуклеотидов равно суммарному содержанию пиримидиновых нуклеотидов.
2. Содержание тимина равно содержанию аденина.
3. Содержание гуанина равно содержанию цитозина.

Эти правила говорят о том, что при построении ДНК должно соблюдаться строгое соответствие не пуриновых и пиримидиновых оснований, а конкретно аденина и тимина, гуанина и цитозина

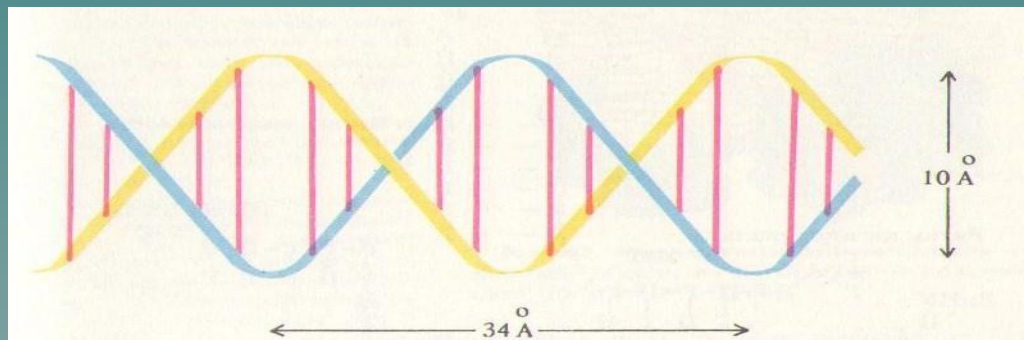


Рис. 12. Две антипараллельные цепи молекулы ДНК свернуты вокруг одной оси в виде спирали, цепи соединены водородными связями (красные линии).

Кисотно-основное титрование ДНК показало, что ее структура стабилизирована водородными связями.

Д.Уотсон и Ф.Крик построили модель вторичной структуры ДНК, получившей название двойной спирали.

ВТОРИЧНАЯ СТРУКТУРА МОЛЕКУЛЫ ДНК

ОСНОВНЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ДВОЙНОЙ СПИРАЛИ ДНК:

1. ДНК представляет собой спираль, закрученную вправо относительно оси.
2. Две цепи в спирали ДНК антипараллельны, т.е. их 3', 5' – межнуклеотидные мостики (связи) направлены в противоположные стороны.
3. Остовы полинуклеотидных цепей расположены на внешней стороне двойной спирали – обращены в сторону водной среды.
4. Пуриновые и пиримидиновые азотистые основания уложены стопкой внутри двойной спирали; основания сближены между собой и расположены перпендикулярно оси симметрии двойной спирали.
5. Диаметр спирали – 2 нм; длина витка – 3,4 нм; расстояние между соседними основаниями – 0,34 нм.

Благодаря такой структуре обеспечивается тесное взаимодействие пар оснований посредством водородных связей. Такие связи образуются между соответствующими – КОМПЛЕМЕНТАРНЫМИ – азотистыми основаниями: аденин комплементарен тимину, гуанин – цитозину. Образую водородные связи, азотистые основания располагаются в плоскости, перпендикулярной оси ДНК. В стабилизации вторичной структуры ДНК принимают участие катионы металлов и специфические белки.

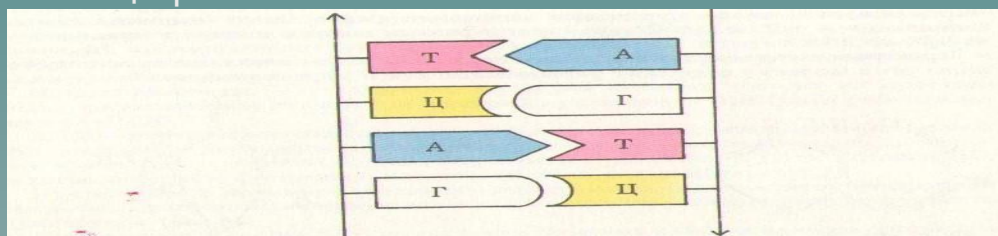


Рис. 9. Пространственная конфигурация Т дополнительна к пространственной конфигурации А, конфигурация Ц — к конфигурации Г.

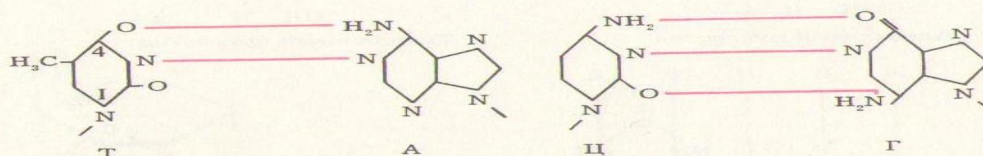


Рис. 10. Комплементарные основания. А и Т связаны водородными мостиками — двумя, Г и Ц — тремя (выделены красным).

КОМПЛЕМЕНТАРНОСТЬ АЗОТИСТЫХ ОСНОВАНИЙ НА УЧАСТКЕ ДВОЙНОЙ СПИРАЛИ ДНК

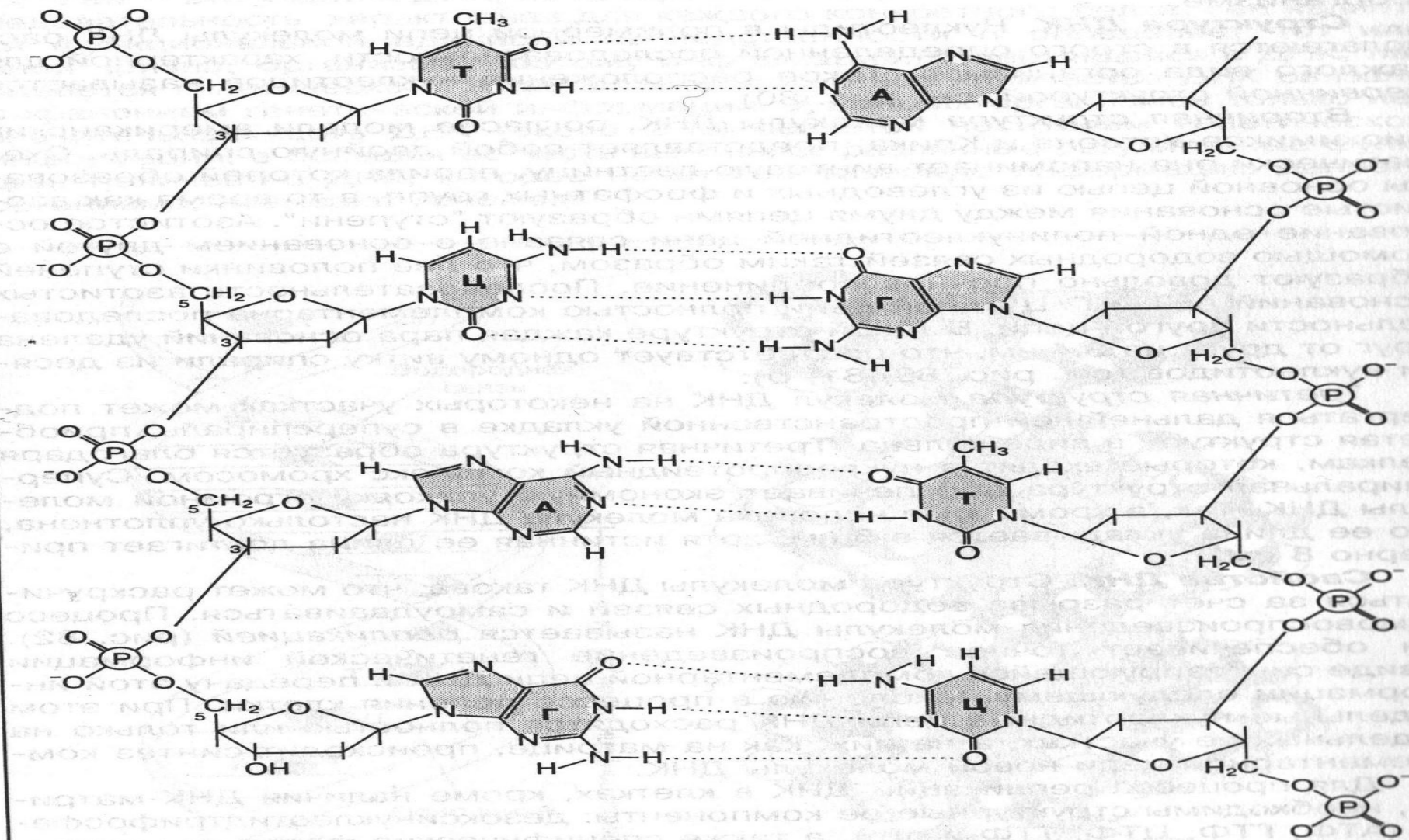
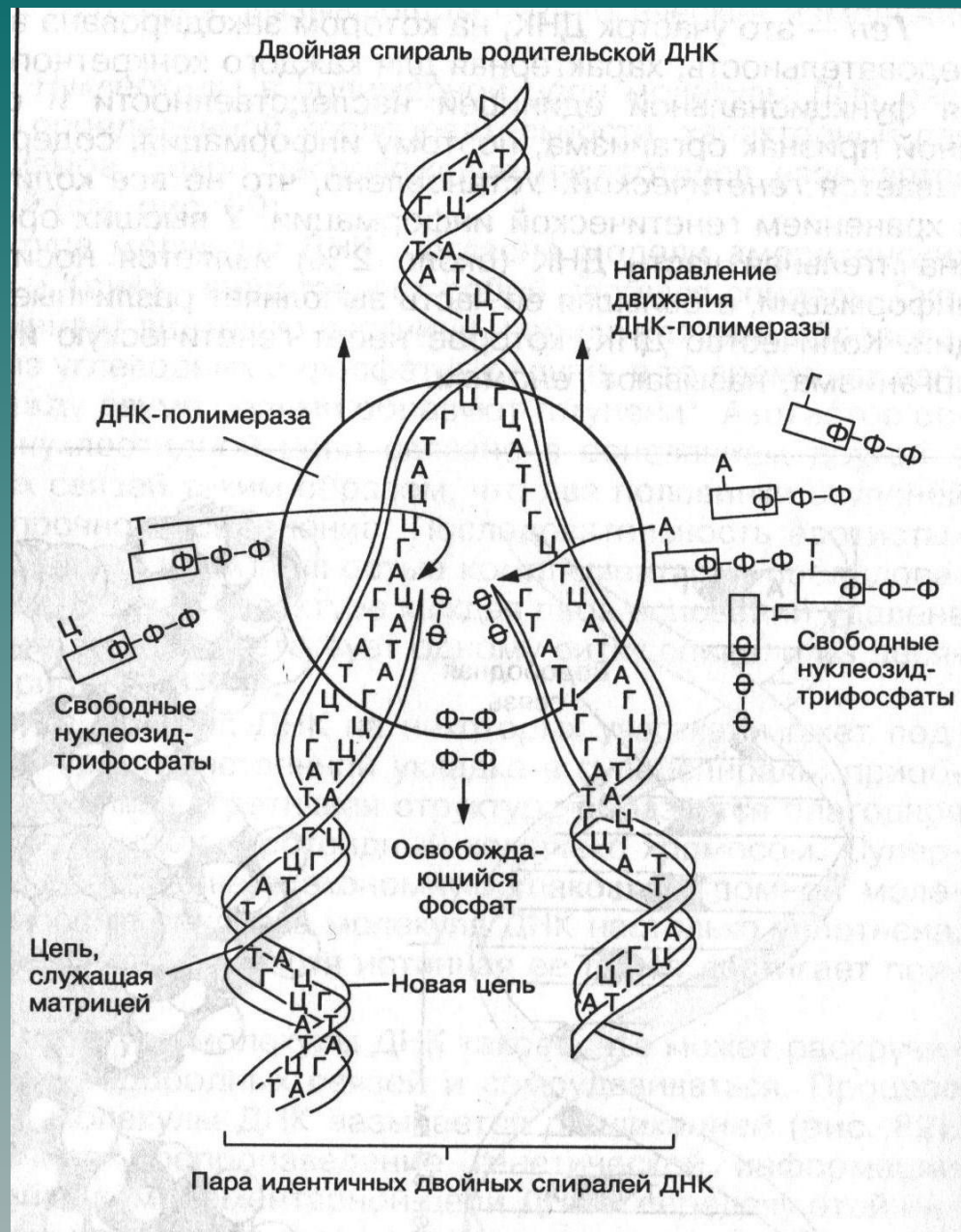


Рис. 80

Комплементарность азотистых оснований на участке двойной спирали ДНК: кружки — остатки фосфорной кислоты; пятиугольники — остатки дезоксирибозы; АГТЦ — пуриновые и пиримидиновые основания

СХЕМА УДВОЕНИЯ (РЕПЛИКАЦИЯ) ДНК



ПОЛИМОРФИЗМ ДНК – в зависимости от условий ДНК может менять свою конформацию. Методом рентгеноструктурного анализа детально изучены А-, В- С- и Т – формы ДНК. Все формы биспиральны, но имеют отличия по ряду параметров.

Таблица 3.1. Характеристики некоторых форм ДНК
(Филиппович Ю.Б. и др., 2005)

Характеристика	А-форма	В-форма	С-форма	Т-форма
Число пар нуклеотидных остатков в витке спирали	11	10	9,3	8,0
Угол наклона плоскостей оснований к оси спирали, °	20	–2	–6	–6
Угол поворота плоскостей оснований вокруг оси спирали, °	32,7	36,0	38,6	45,0
Расстояние комплементарных пар от оси спирали, нм	0,425	0,063	0,213	0,143
Расстояние между нуклеотидными остатками по высоте спирали, нм	0,256	0,338	0,332	0,304
Угол между плоскостями комплементарных оснований, °	8	5	5	—

ТРЕТИЧНАЯ СТРУКТУРА ДНК

В результате дополнительного скручивания в пространстве двойной спирали образуется третичная структура ДНК. В эукариотической клетке ДНК находится в составе хроматина – комплекса ДНК с белками. Хроматин состоит из белков (60%), ДНК (35%) и РНК (5%). Структурной единицей хроматина является нуклеосома. В нуклеосоме ДНК тесно связана с белками гистонами, характерной особенностью которых является наличие в их структуре от 20 до 30% основных аминокислот – лизина, аргинина, гистидина, что определяет их суммарный положительный заряд. Пять классов гистонов: Н1, Н2А, Н2В, Н3, Н4 – отличаются первичной структурой и молекулярной массой. В нуклеосоме гистоны Н2А, Н2В, Н3, Н4 образуют октамер – это **ГИСТОНОВЫЙ КОР**. ДНК – полианион дважды обвивает гистоновый кор. В промежутках между нуклеосомами расположена соединительная (линкерная) ДНК, с которой связан гистон Н1. Длина соединительных участков ДНК в хроматиновых волокнах человека составляет около 50 нуклеотидных пар. За счет образования нуклеосом достигается плотная упаковка огромной молекулы ДНК в ядре.

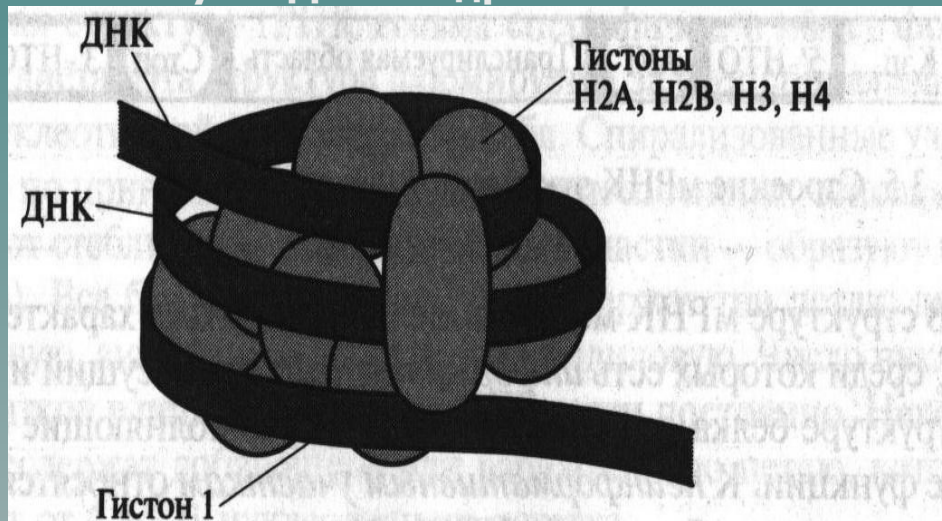
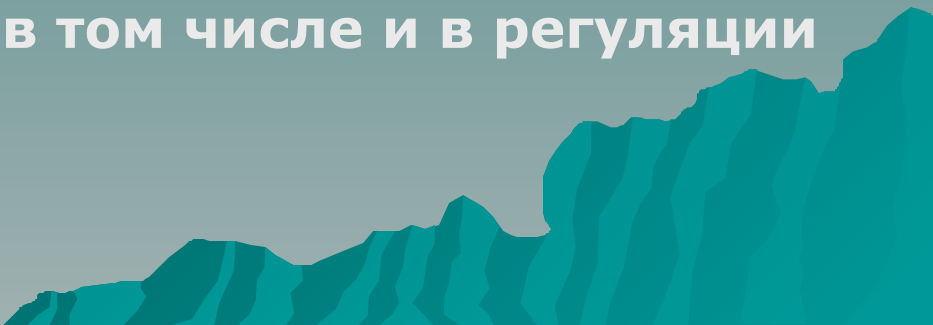


Рис. 3.4. Нуклеосома

БИОЛОГИЧЕСКАЯ РОЛЬ ДНК

1. Основная функция ДНК – хранение и передача наследственной или генетической информации через посредника (мРНК) к белку.
 2. Все признаки организма проявляются через свойства синтезирующихся в нем белков.
 3. Структура каждого белка закодирована в отдельных участках ДНК
 4. Участок ДНК, выполняющий определенные функции, называют геном. Гены: структурные и регуляторные. Структурные гены несут информацию о структуре различных видов РНК. Если структурный ген содержит информацию о матричной РНК, то в нем заложена информация и о первичной структуре белка. Регуляторные белки участвуют в регуляции различных биохимических процессов, в том числе и в регуляции биосинтеза белка.
- 

Структура и функции РНК

Содержание РНК в клетке в несколько раз превышает содержание ДНК. Клетка содержит несколько видов РНК, отличающихся строением, локализацией и выполняемыми функциями.

1. Матричные РНК (мРНК)
2. Транспортные РНК (тРНК)
3. Рибосомные РНК (рРНК)
4. Ядерные РНК (яРНК)
5. Регуляторные РНК (рРНК)

МАТРИЧНЫЕ РНК

Составляют 5% всех РНК клетки. В структуре мРНК можно выделить несколько характерных участков, среди которых есть информативный – несущий информацию о структуре белка и неинформативный, выполняющий специфические функции. К неинформативным участкам относятся КЭП, 5' – не транслируемая область (5' – НТО), 3' – не транслируемая область (3' – НТО) и полиаденилатная последовательность (поли – (А)).

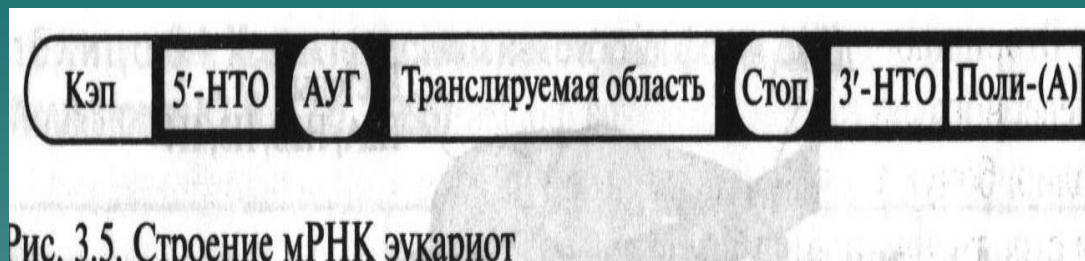
КЭП (англ. *Cap* – кепка) – особенность – наличие метилированных (минорных) азотистых оснований. Кэп защищает мРНК от разрушающих ферментов, принимает участие в биосинтезе белка, выполняя сигнальную функцию в присоединении мРНК к рибосоме. Поли –А – это полиаденилатная последовательность, насчитывает от 50 до 400 нуклеотидных остатков и имеет специфические функции: транспортирует мРНК из ядра в цитоплазму, предопределяет время жизни мРНК, защищая ее с 3'-конца от деструктирующих ферментов.

Информационный участок служит матрицей в биосинтезе белка.

У всех мРНК он начинается с тринуклеотидной последовательности АУГ – ИНИЦИИРУЮЩИЙ КОДОН.

Заканчивается одним из трех кодонов – терминирующие (стоп-сигнал) – к ним относятся тринуклеотидные последовательности УАА, УАГ, УНА (это бессмысленные кодоны, т.к. не несут информации ни об одной аминокислоте).

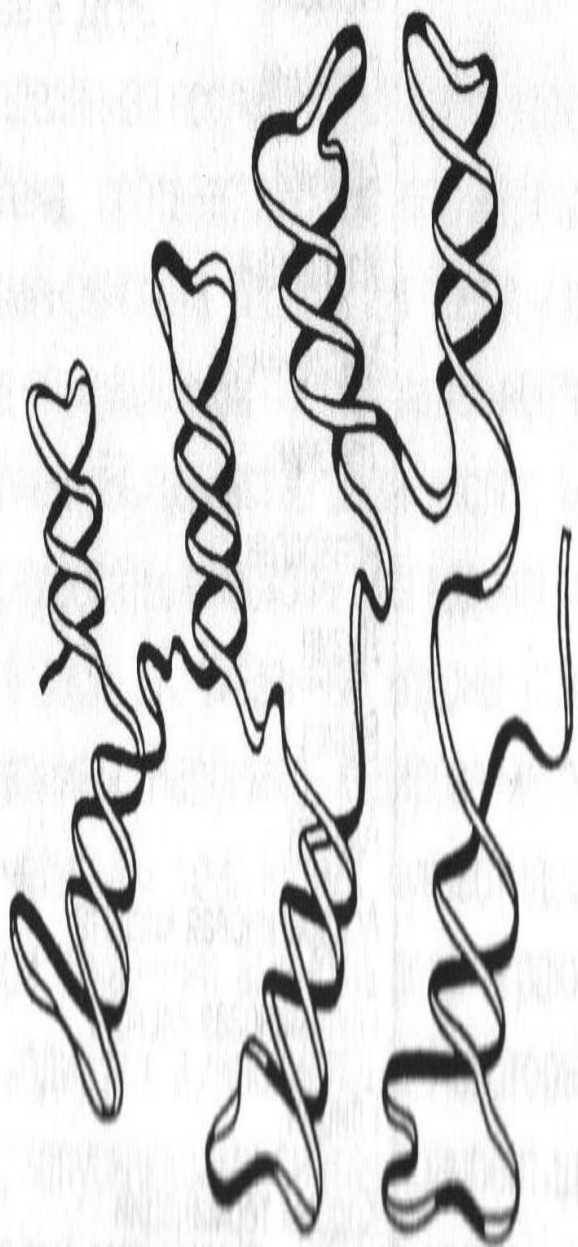
Вторичная структура мРНК формируется за счет спирализации полирибонуклеотидной цепи самой на себя по принципу комплементарности азотистых оснований.



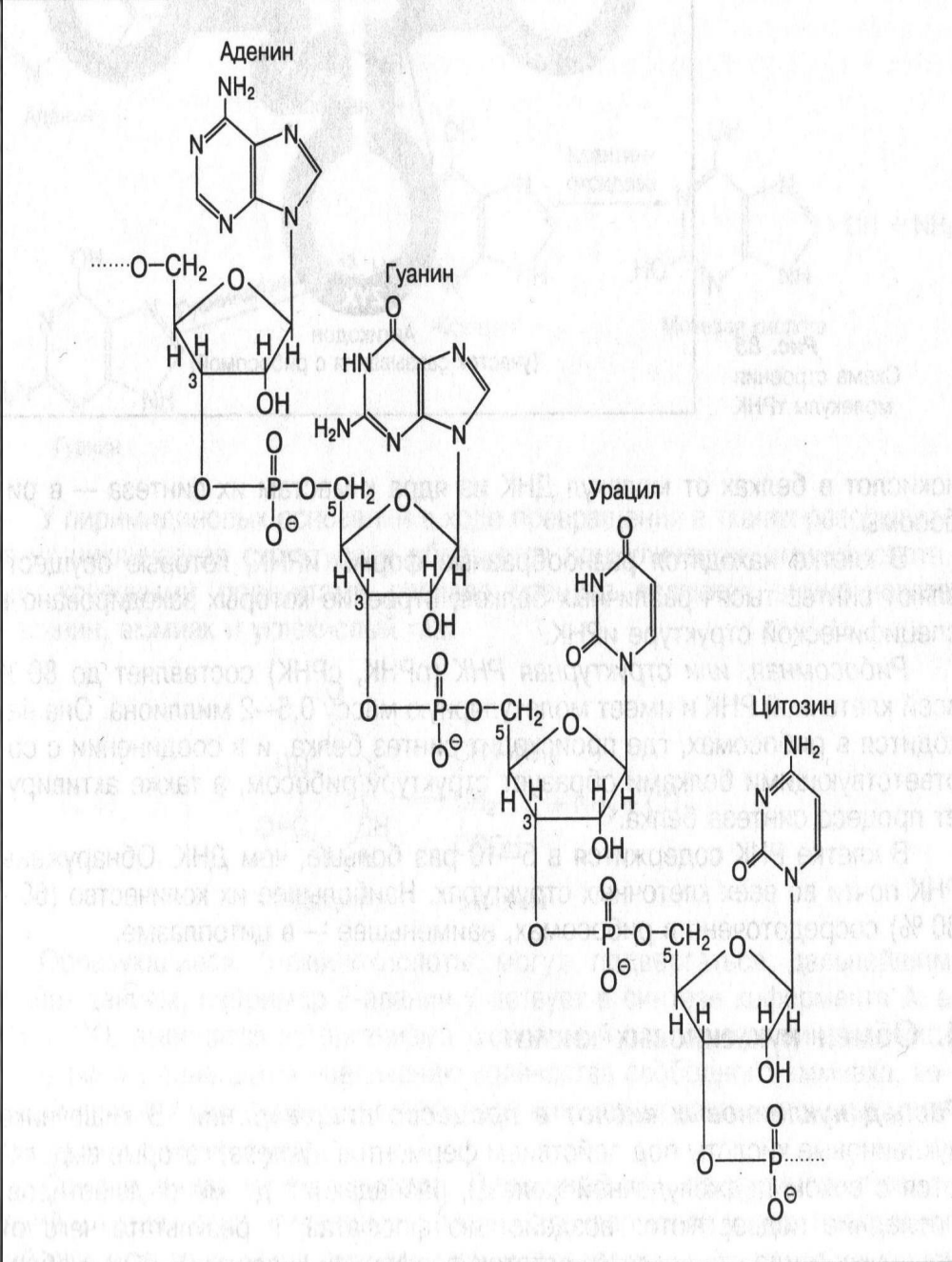
Транспортные РНК

10% всей РНК клетки. тРНК – одноцепочечная молекула, в состав которых входит от 70 до 90 нуклеотидных остатков. Все тРНК начинаются (5'-конец) пуриновым нуклеотидным остатком и заканчиваются (3'-конец) тринуклеотидной последовательностью ЦЦА – акцептирующий конец. тРНК имеет форму клеверного листа за счет спирализации полирибонуклеотидной цепи на себя. Спирализованные участки строятся при принципе комплементарности азотистых оснований, они образуют стебли, а неспирализованные участки образуют петли. Все тРНК содержат 3 петли: дигидроуридиновую, антикодоновую, псевдоуридиловую. Дигидроуридиловая петля (D-петля) состоит из 8-12 нуклеотидных остатков. Антикодоновая петля образована 7 нуклеотидными остатками. Содержит антикодон. Псевдоуридиловая петля состоит из 7 нуклеотидных остатков, среди которых обязательным является минорный нуклеозид – псевдоуридин.

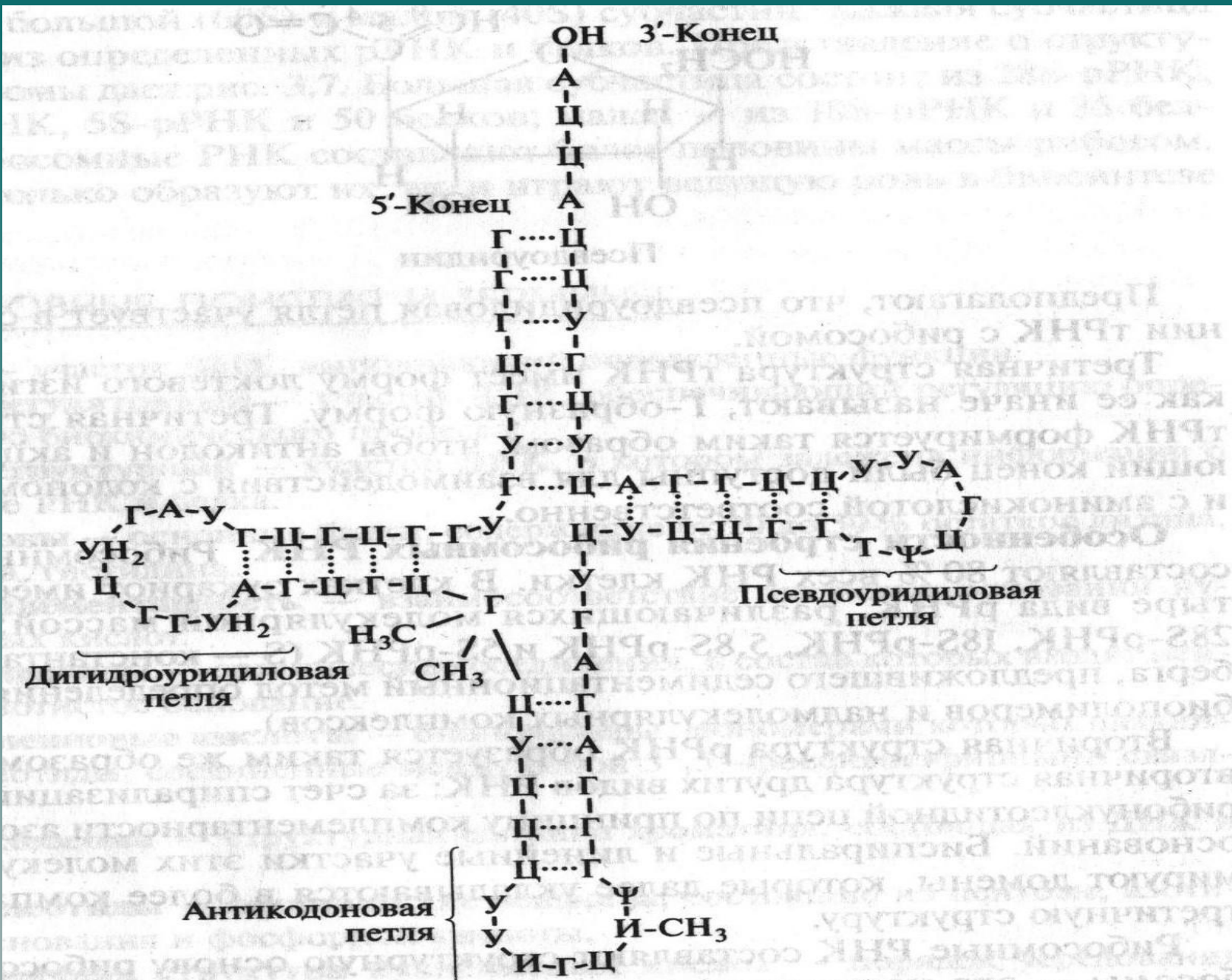
Модель цепи молекулы РНК



Первичная структура РНК



Строение транспортной РНК



Рибосомные РНК

Рибосомные РНК составляют 80% всех РНК клетки. Вторичная структура рРНК образуется за счет спирализации полирибонуклетидной цепи по принципу комплементарности азотистых оснований. Биспиральные и линейные участки этих молекул формируют домены, которые далее укладываются в более компактную третичную структуру.

рРНК составляют структурную основу рибосом. РИБОСОМЫ – это надмолекулярные нуклеопротеиновые комплексы, функцией которых в клетке является биосинтез белка.

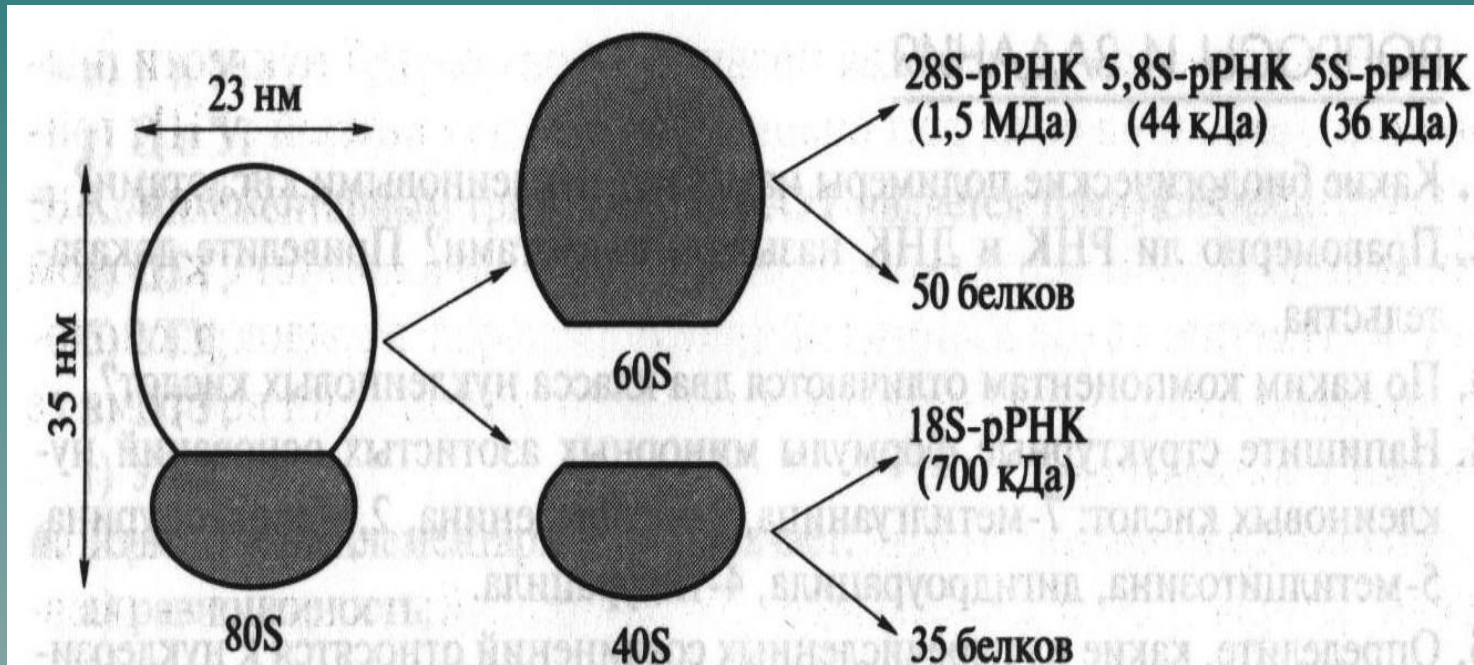
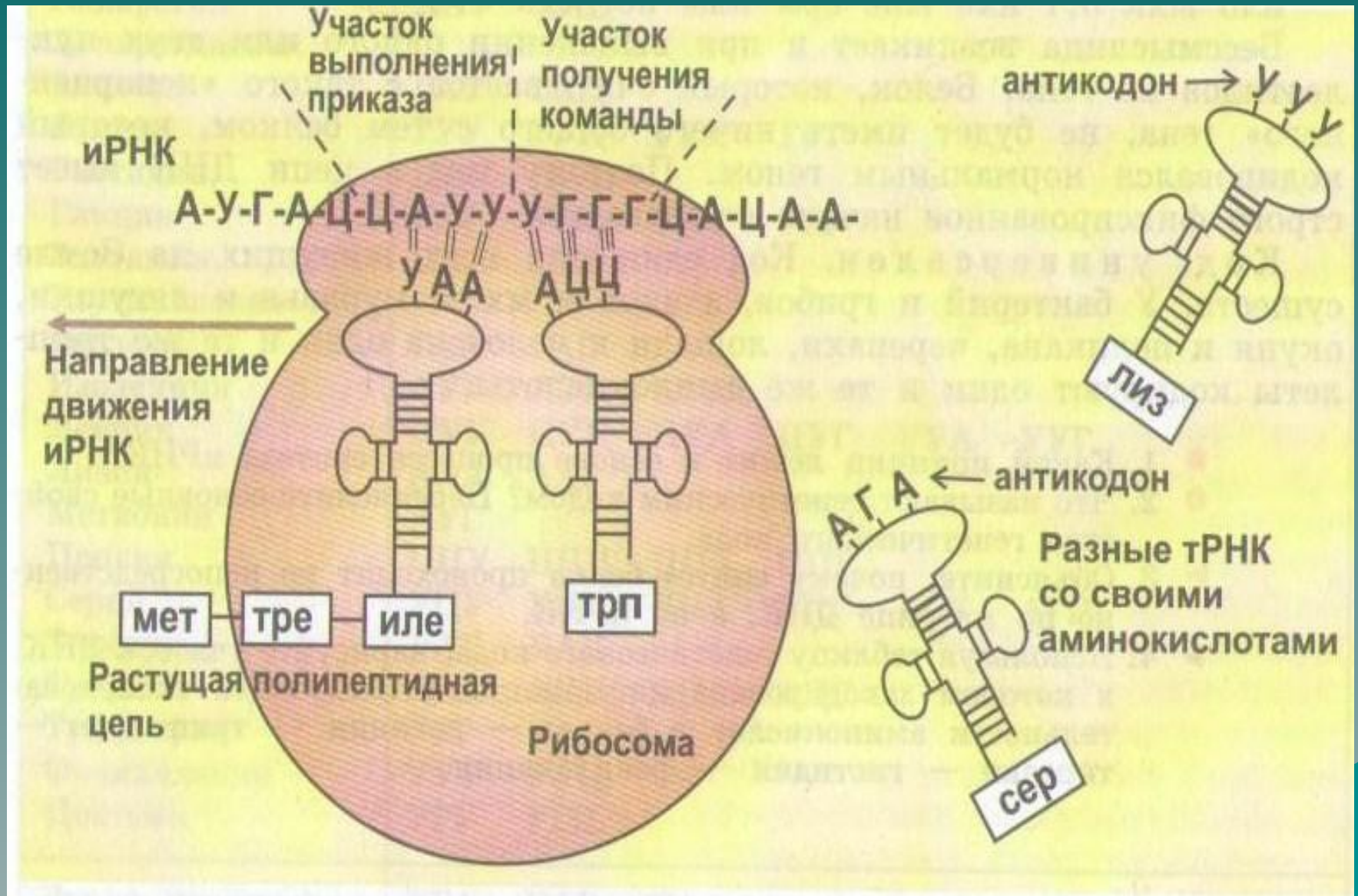
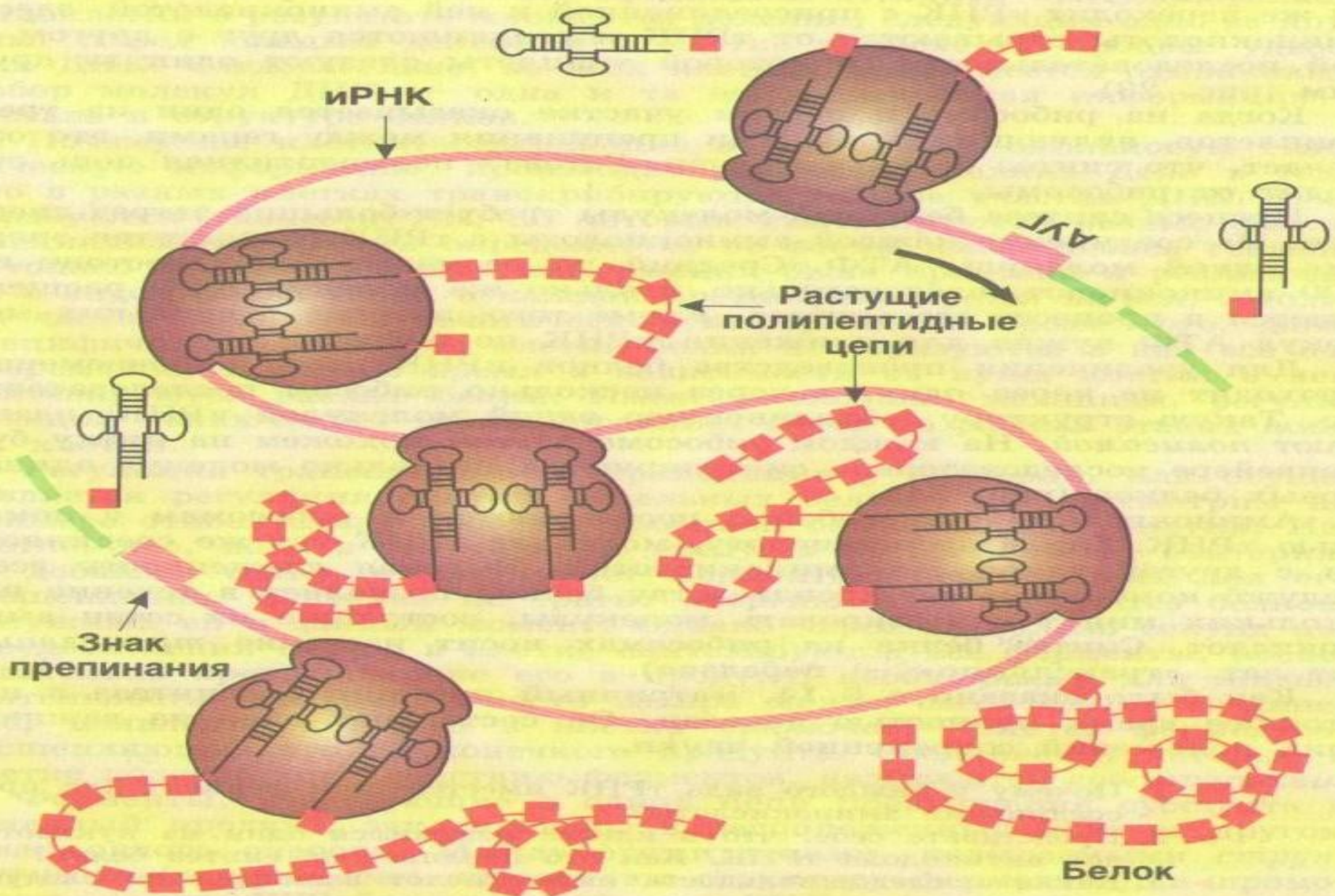


Рис. 3.7. Строение рибосомы эукариот (в скобках указана относительная молекулярная масса)

БИОСИНТЕЗ БЕЛКОВ



СИНТЕЗ БЕЛКОВ НА ПОЛИСОМЕ



БЛАГОДАРЮ ЗА ВНИМАНИЕ

