

**Лекция-7**  
**Биомакромолекулы**  
**Нуклеиновые кислоты 1-**  
**часть**

- Транскрипция

- Репликация

# Состав клетки

## Вещества в клетке

### Неорганические

- Вода – 75-85%
- Неорганические соли, кислоты – 1-1,5%

### Органические

#### Малые молекулы

- Моносахариды
  - Аминокислоты
  - Нуклеотиды
  - Другие
  - Липиды (жиры) – 1-5%
- } 0,5%

#### Биополимеры

##### (макромолекулы)

- Полисахариды (углеводы) - 0,2-2%
- Белки - 10-20%
- Нуклеиновые кислоты (ДНК, РНК) - 1-2%

# История открытия:

## ДНК



- В 1869 году молодой швейцарский врач Фридрих Мишер в Германии решил изучить химический состав клеток животных, а в качестве материала выбрал лейкоциты, которых было много в гное. Из местной хирургической больницы ему стали привозить корзины с гнойными повязками, снятыми с ран.
- В процессе работы он понял, что кроме белков в лейкоцитах присутствует неизвестное соединение, содержащееся в ядрах клеток.
- Фридрих Мишер назвал его нуклеином, от латинского *nucleus* — ядро.
- Позже было обнаружено, что бактериальные клетки, в которых нет ядра, тоже содержат нуклеиновые кислоты.



Фридрих Мишер

## РНК

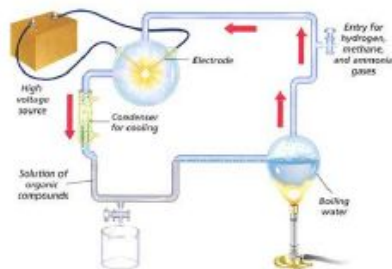
- Джерард Маирбакс изолировал первую матричную РНК, кодирующую гемоглобин кролика и показал, что при её введении в ооциты образуется гемоглобин.
- Северо Очоа получил Нобелевскую премию по медицине в 1959 году за открытие механизма синтеза РНК

# Происхождение ДНК

## Земное!

### Эксперимент Миллера — Юри

Figure 14.12  
Miller and Urey's experiments showed that under the proposed conditions of early Earth, small organic molecules, such as amino acids, could form.



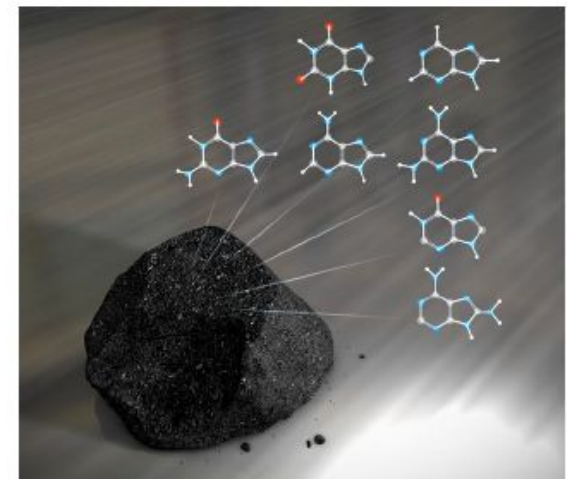
### Теория химической эволюции



## Внеземное?



Ученые из NASA проанализировали состав 12 богатых углеродом метеоритов, 9 из которых найдены в Антарктике. В них были обнаружены компоненты ДНК такие как аденин, гуанин, а также и другие клеточные компоненты - гипоксантин и ксантин.

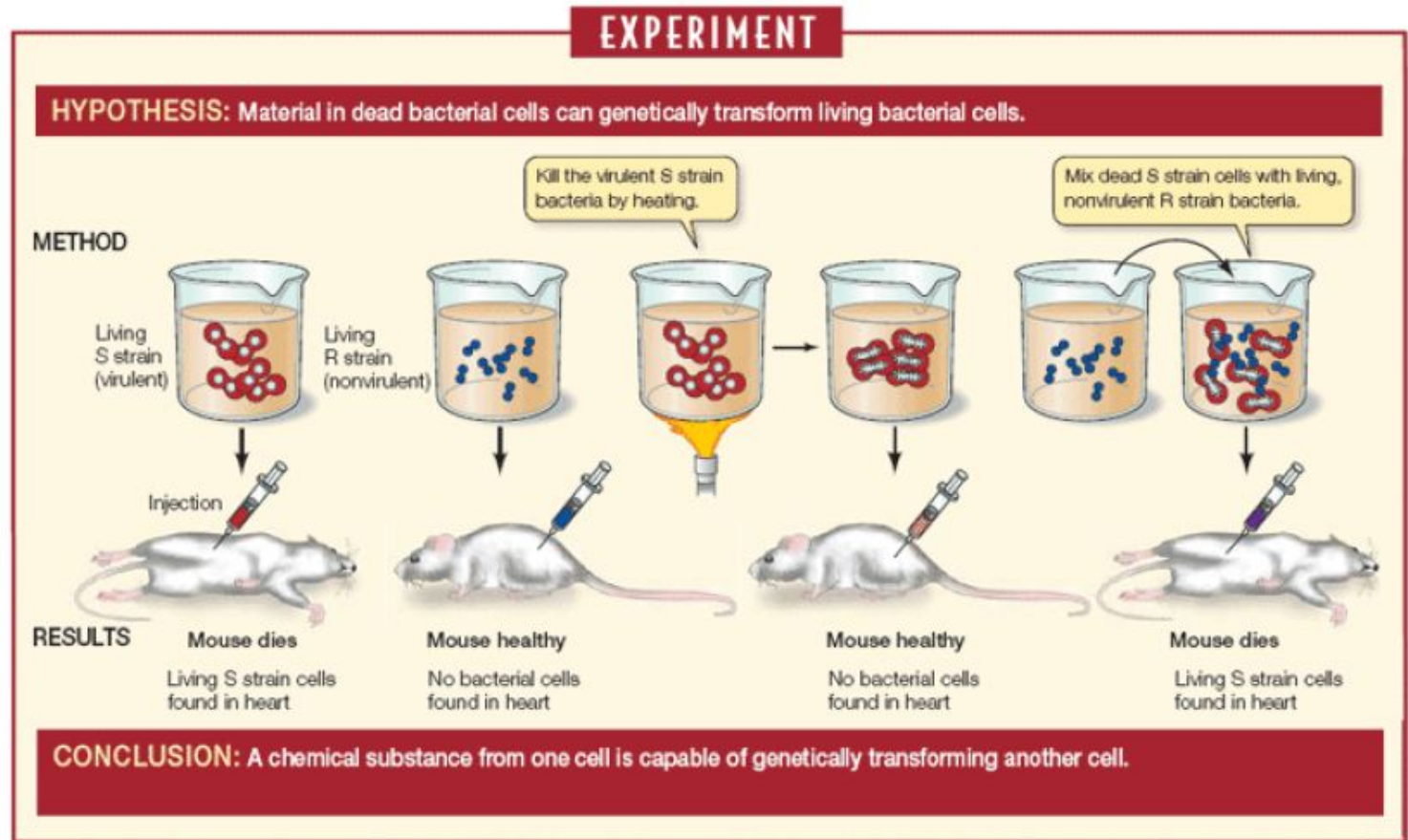


# История изучения ДНК

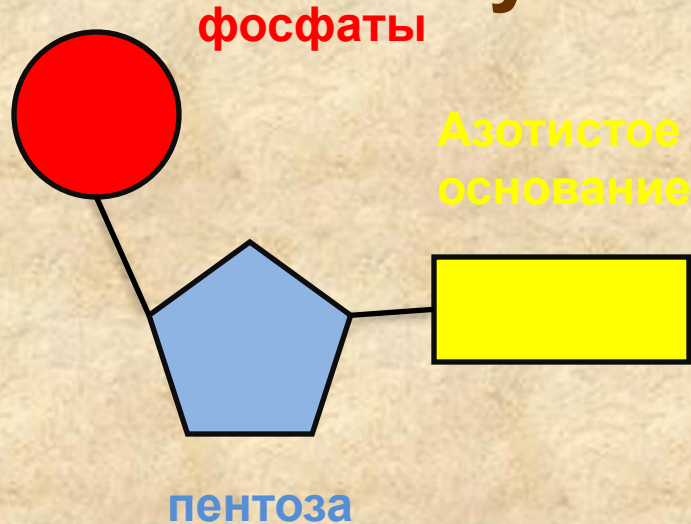
- В 1869 году Фридрих Мишер обнаружил неизвестное соединение, содержащееся в ядрах клеток, и назвал его нуклеином, от латинского nucleus — ядро.



## Эксперимент Эвери, Маклеода и Маккарти по трансформации бактерий. 1944 г.



# Нуклеиновые кислоты



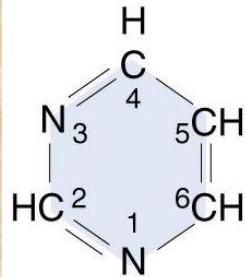
- Химически нуклеиновые кислоты представляют собой биополимеры, состоящие из мономерных звеньев – нуклеотидов. Каждый нуклеотид содержит три различных компонента: азотистое (пуриновое или пиримидиновое) основание, моносахарид пентозу (рибозу или дезоксирибозу) (Rb), остаток фосфорной кислоты (P).

**НК**- это полинуклеотиды, т.е. биополимеры, мономерами которых являются нуклеотиды.

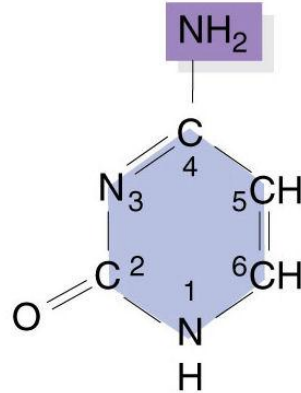
**Нуклеотиды** - фосфорные эфиры нуклеозидов

**Нуклеозиды** – гликозиды, образованные нуклеиновыми основаниями и пентозой (рибозой или дезоксирибозой)

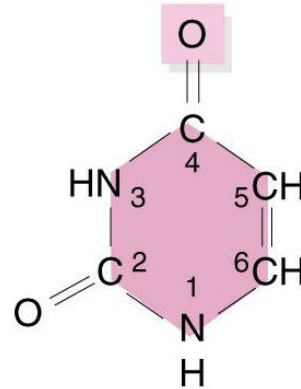
# Азотистые основания



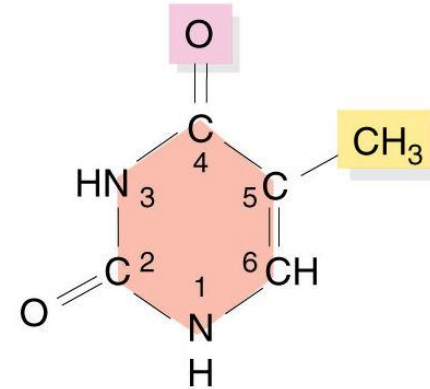
**Pyrimidine**



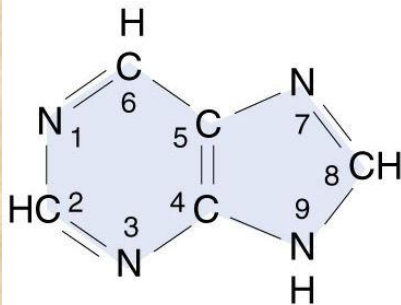
**Cytosine (C)**



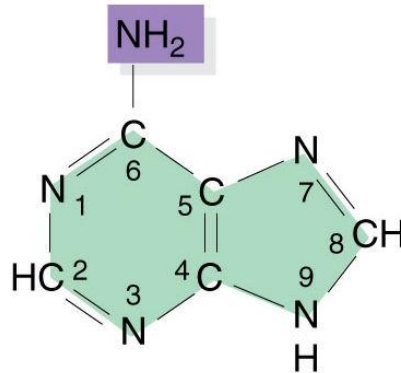
**Uracil (U)**  
(found in RNA)



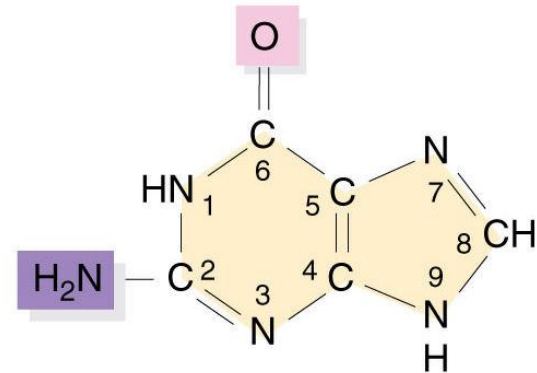
**Thymine (T)**  
(found in DNA)



**Purine**



**Adenine (A)**



**Guanine (G)**

© 2010 Pearson Education, Inc.

Гетероциклические основания, входящие в состав нуклеиновых кислот (нуклеиновые основания), - это **гидрокси- и аминопроизводные** пиримидина и пурина. Нуклеиновые кислоты содержат три гетероциклических основания с пиримидиновым циклом (**пиримидиновые основания**) и два - с пуриновым циклом (**пуриновые основания**).

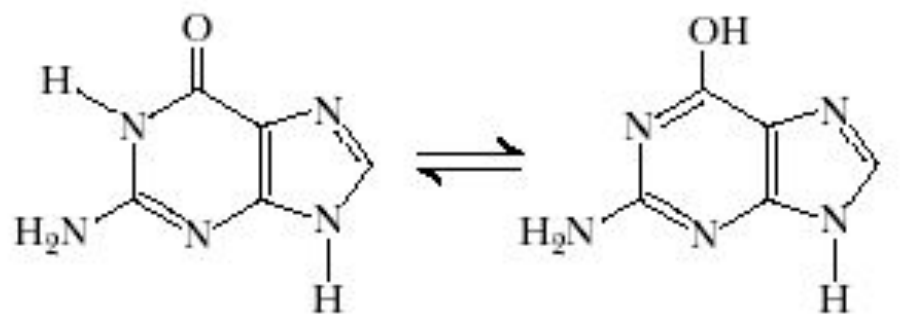
# Таутомерия азотистых оснований

## Лактим-лактамная таутомерия



Амид-иминольную таутомерию лактамов называют лактам-лактимной таутомерией

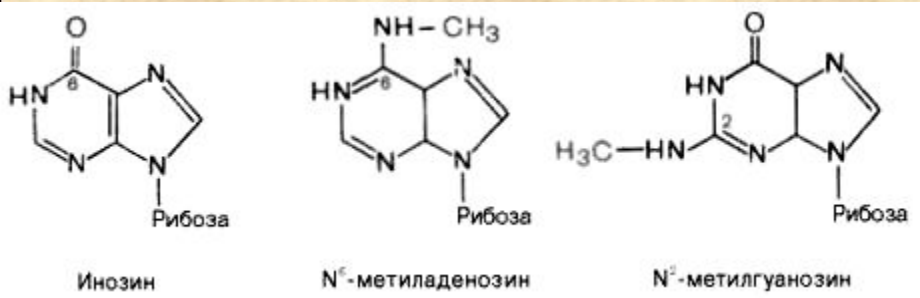
Все оксопроизводные азотистых оснований могут существовать в лактимной (енольной) и лактамной (кетонной) форме. При pH 7,0 они представлены в лактамной форме, при снижении величины pH – в лактимной форме.



# Минорные основания нуклеозидов



## Пиримидиновые минорные нуклеозиды



## Пуриновые минорные нуклеозиды

Так, в ДНК насекомых минорные нуклеозиды достоверно не обнаружены, в ДНК позвоночных их содержится 1-2%, а у растений эта величина достигает 3-8%. Минорные нуклеозиды находятся в ДНК обычно не в уникальных, а в повторяющихся последовательностях. Характер модификаций в минорных нуклеозидах варьирует очень широко, но в значительной степени преобладает N-, C- и S-метилирование оснований.

- Минорные нуклеозиды обнаружены практически во всех нуклеиновых кислотах. Наиболее высокое содержание минорных нуклеозидов наблюдается у эукариотич. транспортных РНК (тРНК), (доля минорных нуклеозидов достигает 20-25% от общего количества). Значительно меньше (1-2%) минорных нуклеозидов в рибосомных РНК (рРНК). У последних минорные нуклеозиды сосредоточены в ограниченном числе мест. В отличие от РНК содержание минорных нуклеозидов в ДНК разных организмов сильно варьирует.

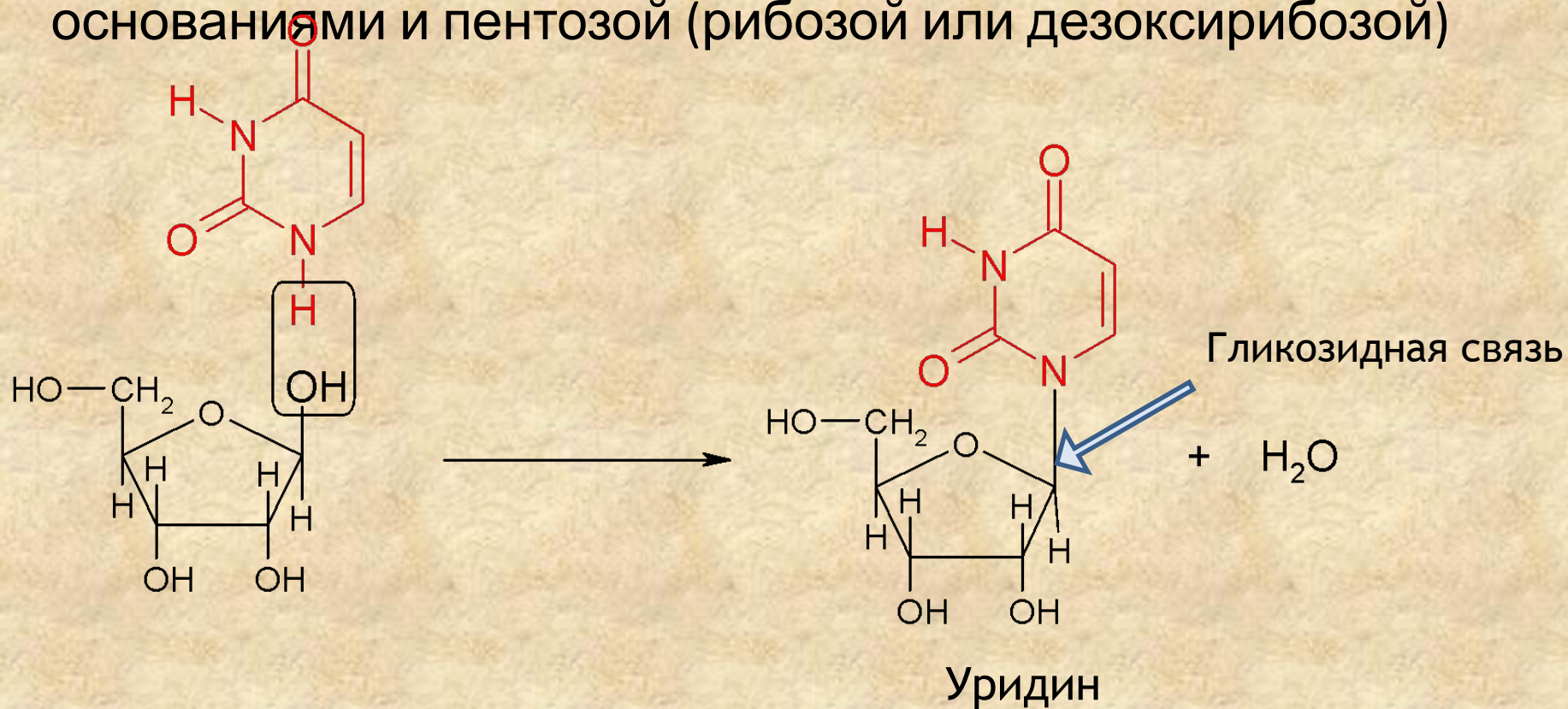
# Минорные основания нуклеозидов

К пуриновым минорным основаниям относятся такие: инозин, N6-метиладенин, N2-метилгуанин, ксантин, гипоксантин, 7-метилгуанин и др. К пиримидиновым основаниям относятся такие: 5-метил- и 5-окси-метилцитозин, дигидроурацил, 1-метилурацил, оротовая кислота, 5-карбоксиурацил, 4-тиоурацил и др.

Например, в состав нуклеотидов тРНК входят минорные основания в количестве 60 оснований на молекулу. В тРНК они выполняют 2 функции: делают тРНК устойчивыми к воздействию нуклеаз цитоплазмы и поддерживают определенную третичную структуру молекулы, т.к. не могут участвовать в образовании комплементарных пар и препятствуют спирализации определенных участков в полинуклеотидной последовательности тРНК.

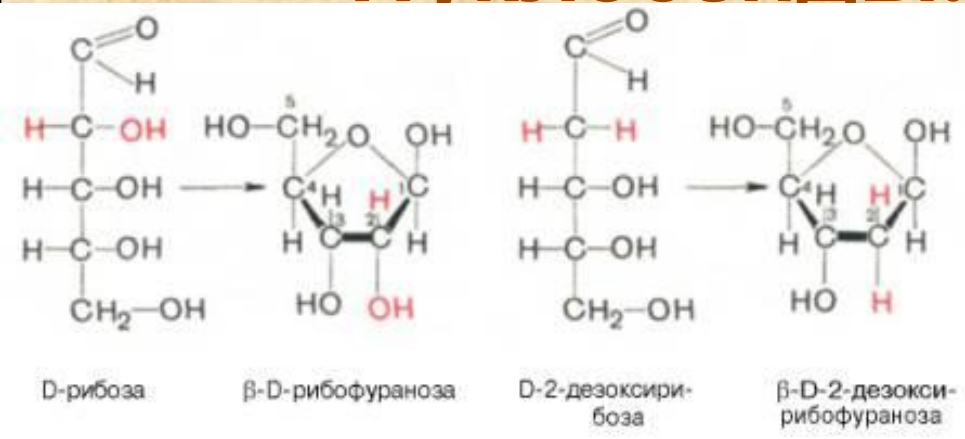
# Нуклеозиды

- **Нуклеозиды**-гликозиды, образованные нуклеиновыми основаниями и пентозой (рибозой или дезоксирибозой)



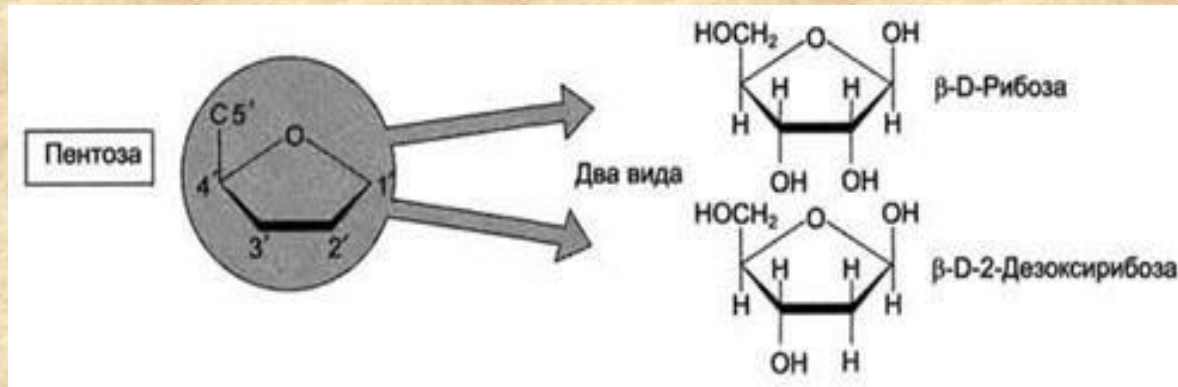
Нуклеозиды лучше растворимы в воде, чем исходные азотистые основания. Их легко можно разделить и идентифицировать методом тонкослойной хроматографии. Они устойчивы к щелочам, но легко гидролизуются кислотами, а также ферментом нуклеозидазой.

# Нуклеозиды. Углеводы.



Углеводы (рибоза и дезоксирибоза) в молекулах ДНК и РНК находятся в β-рибофуранозной форме:

В составе некоторых фаговых ДНК обнаружена молекула окозы, которая соединяется азидной связью с 5-метилцитозином

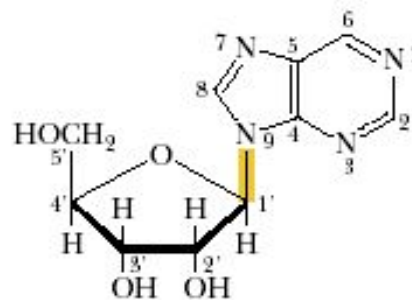
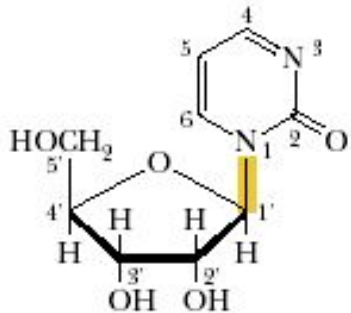


В состав ДНК входит β-D-2-дезоксирибоза, в состав РНК – β-D-рибоза. И в том, и в другом случае эти монозы являются пентозой (пять углеродных атомов), различия касаются лишь второго углеродного атома. В рибозе углерод-2 связан с ОН-группой, тогда как в дезоксирибозе на месте ОН-группы находится Н, отсюда префикс "дезокси". Буквы β и D отражают специфическую конфигурацию при атомах C-1' и C-4' фуранозного цикла.

# Нуклеозиды

Азотистые основания не участвуют в образовании никаких других ковалентных связей, помимо связывающей их с остатками пентозы сахарофосфатной цепи. Именно последовательность азотистых оснований в полинуклеотидной цепи определяет уникальную структуру и специфическую функцию молекул нуклеиновых кислот.

- Нуклеозиды – соединения, в которых пуриновые или пиримидиновые основания связаны с рибозой (рибонуклеозиды) или дезоксирибозой (дезоксирибонуклеозиды).
- Пентоза соединяется с азотистым основанием N-гликозидной связью, которая образуется между C<sub>1'</sub>-атомом пентозы и N<sub>1</sub>-атомом пиримидина или N<sub>9</sub>-атомом пурина.



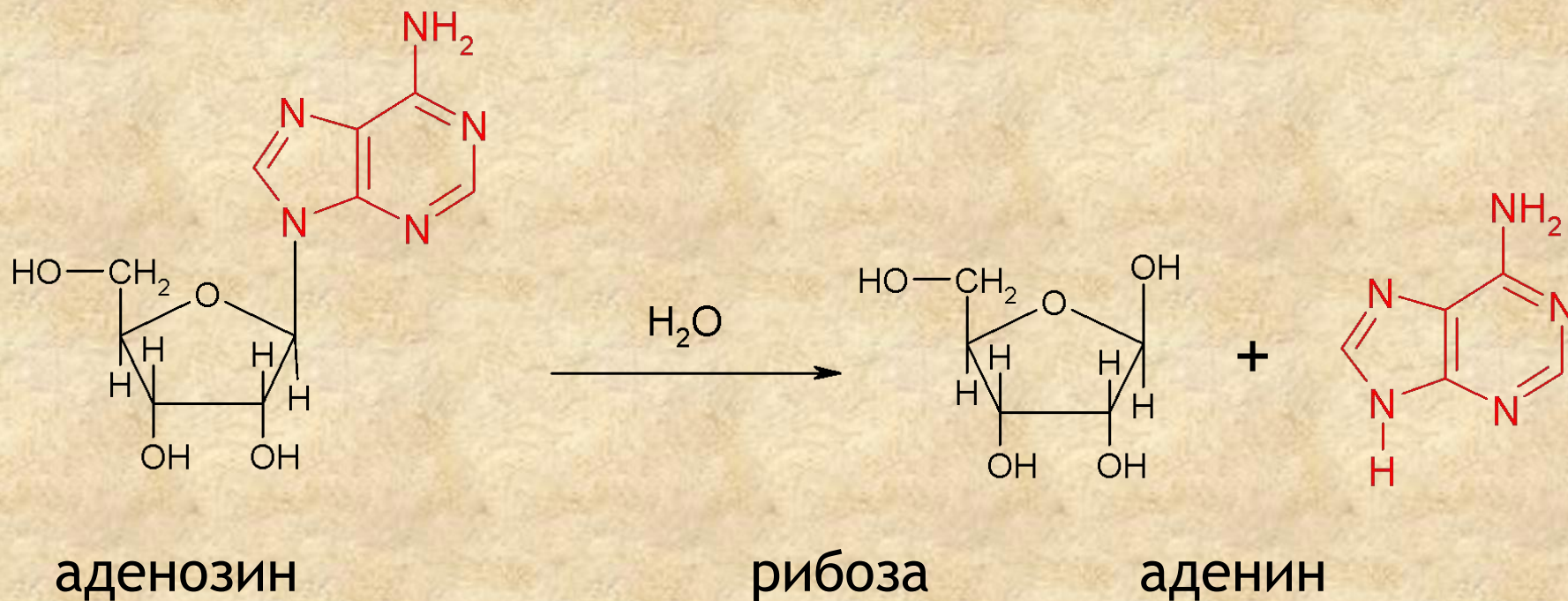
Название нуклеозидов составляют, исходя из названия азотистого основания, меняя окончание у **пуринов на -озин**, у **пиримидинов – на -дин**.

Например, если аденин присоединяется к рибозе, образуется нуклеозид аденозин; если урацил – уридин.

β-N<sub>1</sub>-гликозидная связь

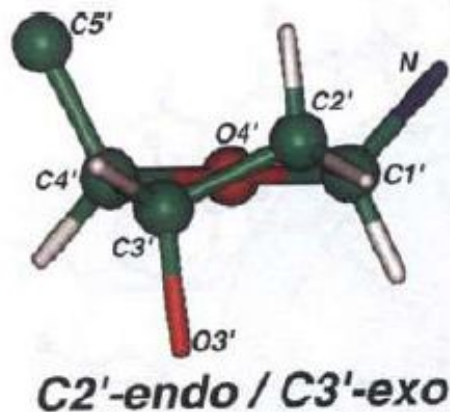
β-N<sub>9</sub>-гликозидная связь

# Гидролиз нуклеозидов



# Различные конформации сахара

**endo** – отклонение вверх, в сторону  $C5'$   
**exo** – отклонение вниз, в сторону  $O3'$   
 **$E_m$**  – максимально отклоняющийся вниз  
 **$E^m$**  – максимально отклоняющийся вверх  
 **$T_m^n$**  – **twist** – отклонения вверх(вниз) близки по величине



Все пять гетероциклических оснований имеют плоскую конформацию. В то же время для остатков рибозы и дезоксирибозы плоская конформация энергетически невыгодна. В природе реализуются только две конформации пентоз: либо  $C2'$ -эндо-, либо  $C3'$ -эндоконформация.

При этом нуклеотидная единица с  $3'$ -эндоконформацией углеводного остатка имеет меньшую длину, чем  $2'$ -эндоизомер. В свободных нуклеотидах переходы от  $C2'$ -эндоконформации к  $C3'$ -эндоконформации и от синконформации – к антиконформации легки. Важнейшей характеристикой при определении конформации нуклеозида имеет взаимное расположение углеводной и гетероциклической частей, которое определяется углом вращения вокруг N-гликозидной связи. С помощью различных способов исследования было показано, что существует две области разрешенных конформаций, называемых син- и антиконформациями

# Конформации

**6 углов вращения в  
рибозофосфатной цепи**

$\alpha$  :  $O3'(i-1)-P=O5'-C5'$

$\beta$  :  $P-O5'=C5'-C4'$

$\gamma$  :  $O5'-C5'=C4'-C3'$

$\delta$  :  $C5'-C4'=C3'-O3'$

$\epsilon$  :  $C4'-C3'=O3'-P(i+1)$

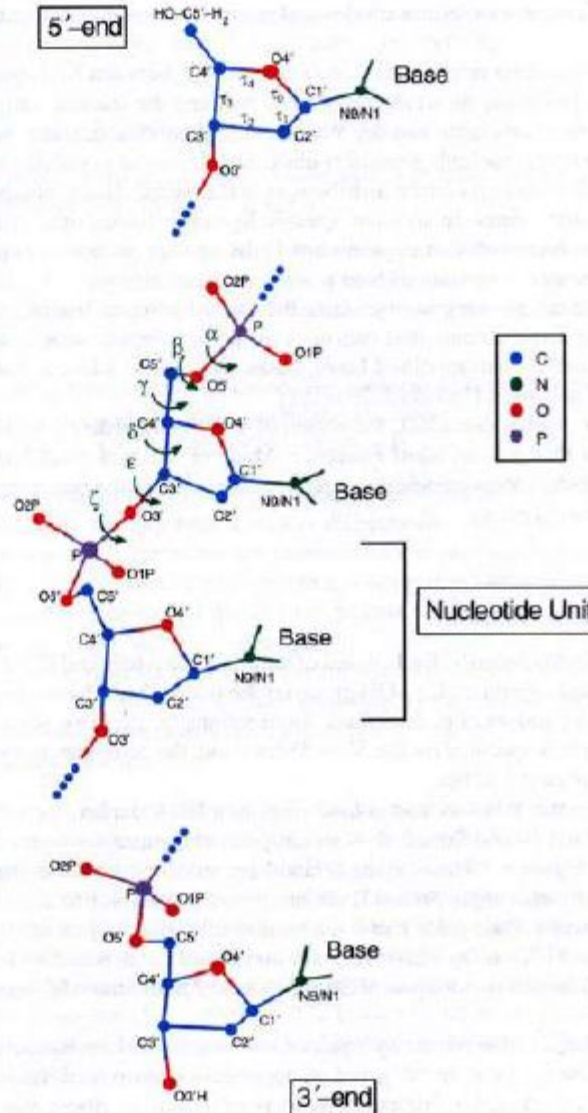
$\xi$  :  $C3'-O3'=P(i+1)-O5'$

**угол ориентации основания**

$\chi$  :  $O4'-C1'=N1-C2$  : PYR

$O4'-C1'=N9-C4$  : PUR

**Фрагмент рибозы подвижен**  
- влияет на ориентацию  
основания



# Конформации нуклеотидов

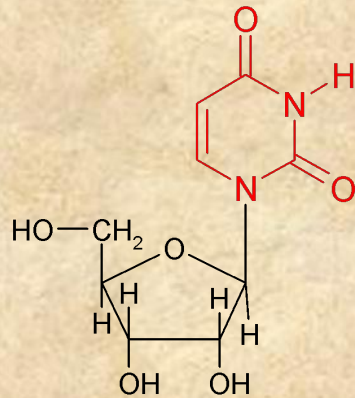
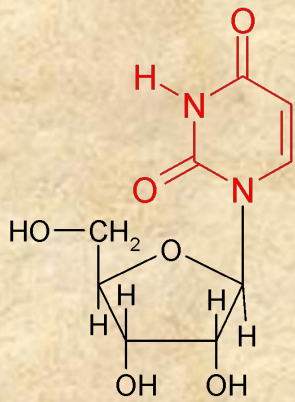
## Конформации основания

угол вращения вокруг гликозидной связи C1'-N  
 - ориентация основания относительно рибозы

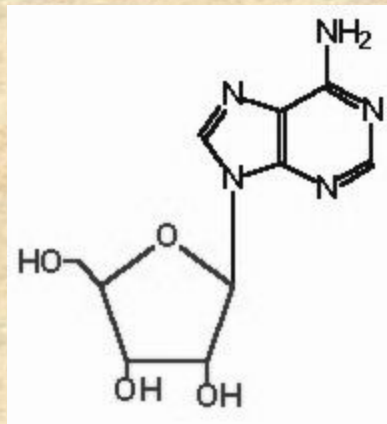
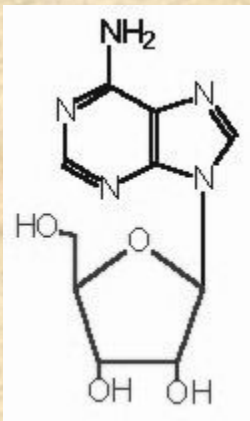
$\chi$  : O4'(C2')-C1'=N1-C2 : **PYR**

O4'(C2')-C1'=N9-C4 : **PUR**

**Anti** – 210° (90°), **Syn** – 30° (270°)

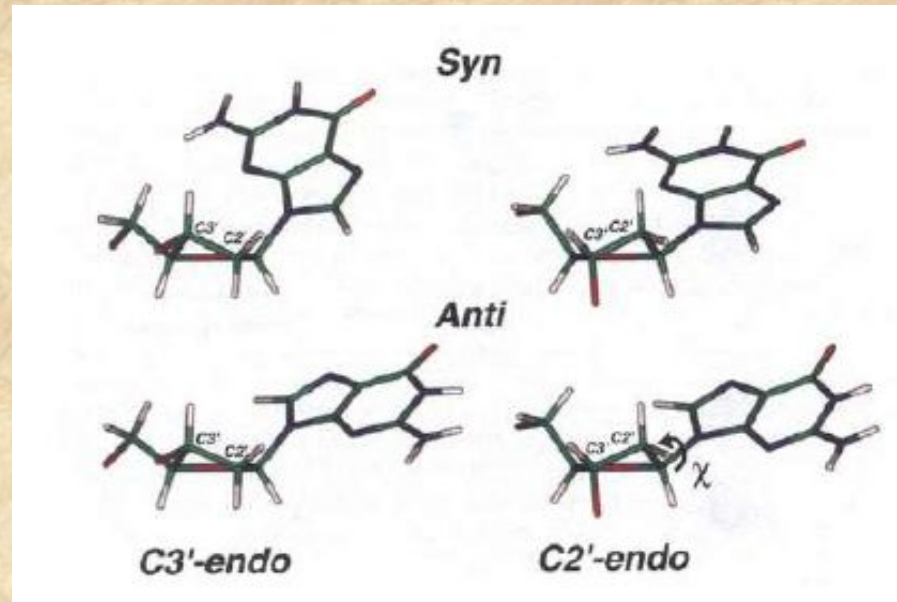


Уридин



Син-аденозин

Анти-аденозин



# Конформации рибозного кольца

Два минимума энергии –  $P \sim 18^\circ$  –  $C3'$  endo – N конформация  
 $P \sim 162^\circ$   $C2'$  endo – S конформация

Рис.10-8. Конформационная карта энергии рибозного кольца в координатах  $P$  и  $\tau$

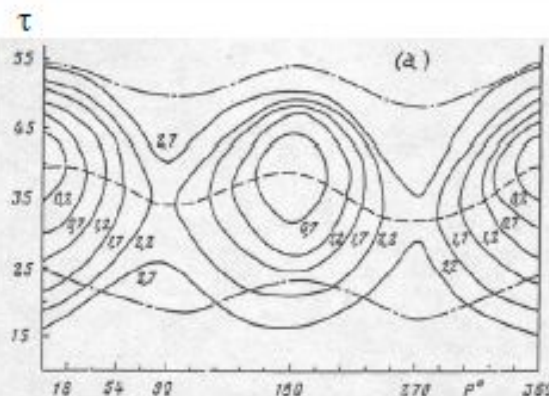
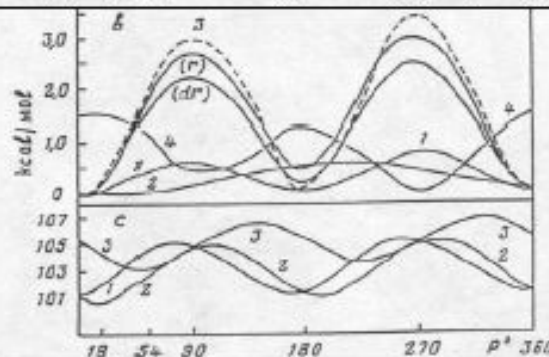


Рис.10-9. Конформационная энергия рибозы вдоль пути внутренней конверсии. Энергии : 1- ван дер ваальсова, 2- электростатическая, 3- торсионная, 4 – деформация углов.



Статистика конформаций рибозы из кристаллических структур нуклеозидов и нуклеотидов хорошо коррелирует с конформационной картой энергии

**Рибоза** – двух позиционный переключатель ориентации основания,  
 Дезокси-рибоза - конформационно более мобильна рибозы,  
 Формы N,S равновероятны для д-рибозы,  
 $N > S$  для рибозы

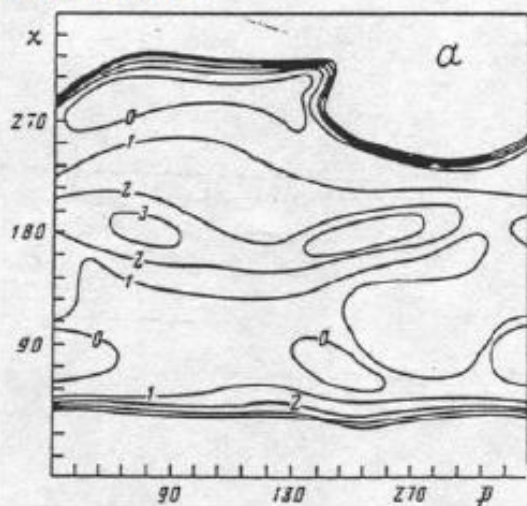
# Конформации

- Рибоза-основание**

Взаимодействие (-C5'H2-) группы рибозы с основанием определяет область разрешенных значений **P,  $\chi$**

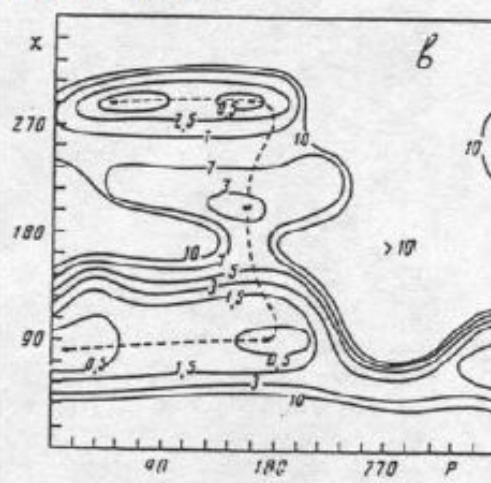
**P,  $\chi$  - независимы**

**PUR** Рис.10-12.



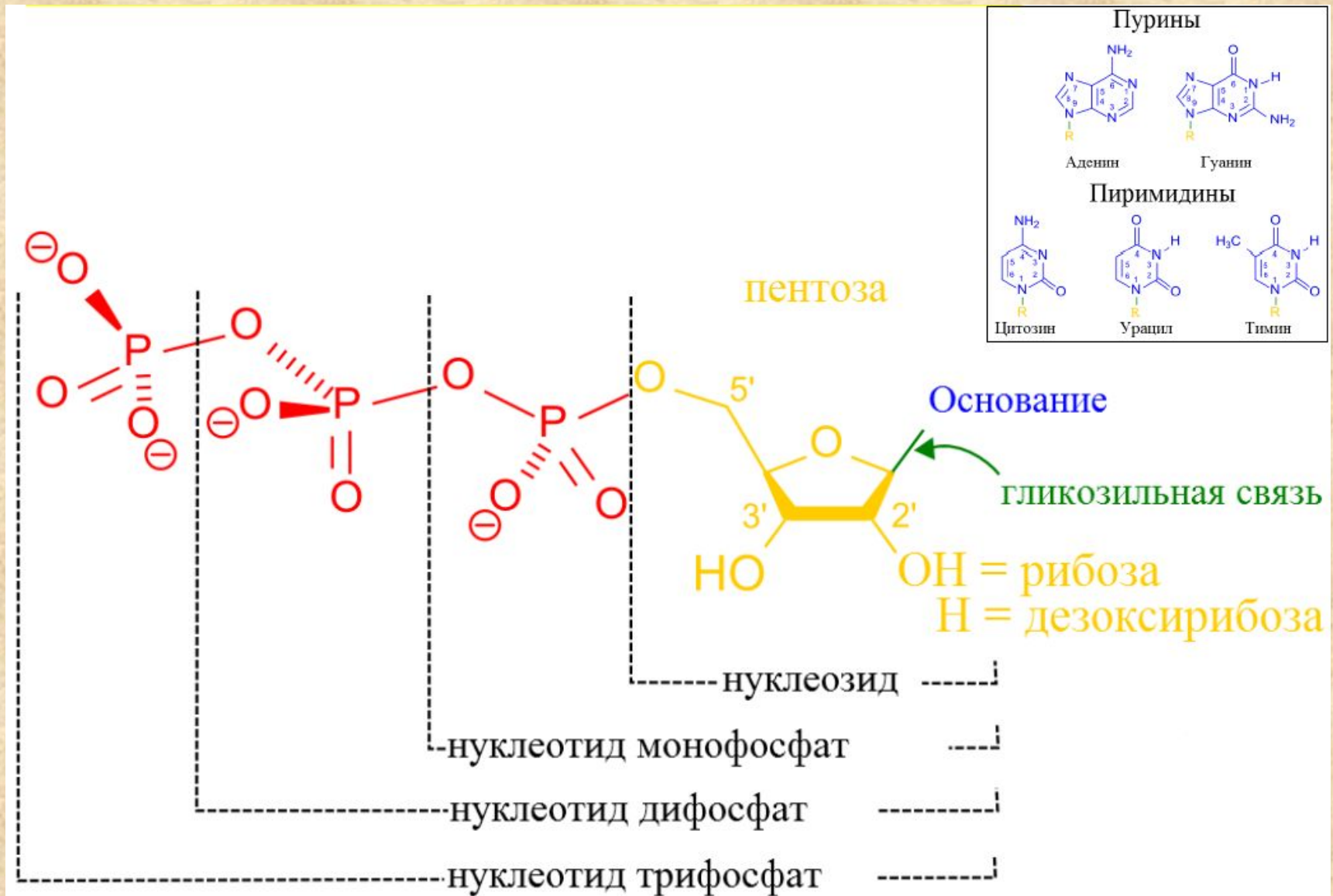
**P,  $\chi$  - сильно коррелированы, конверсия анти(90)  $\rightarrow$  син(270) - выделенный путь**

**PYR** Рис.10-13.



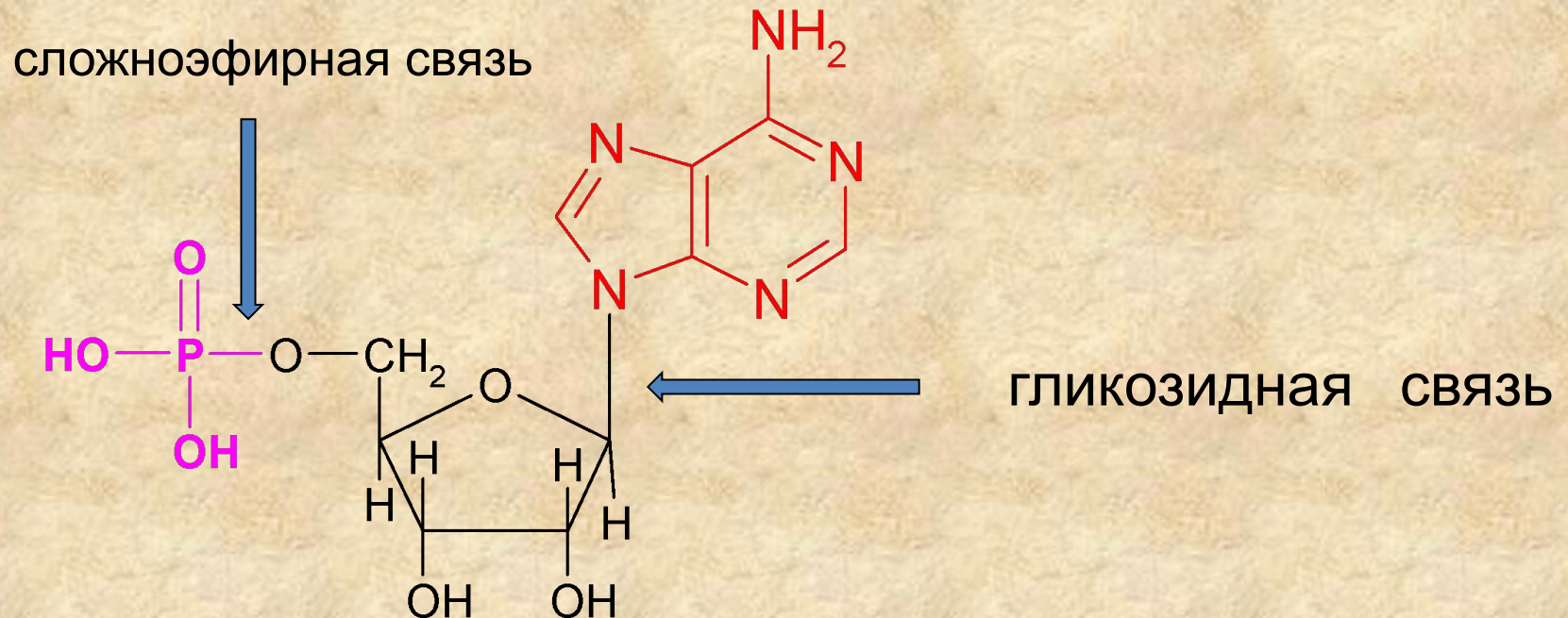
# Строение нуклеозида и нуклеотидов

Нуклеотиды – фосфорные эфиры нуклеозидов.

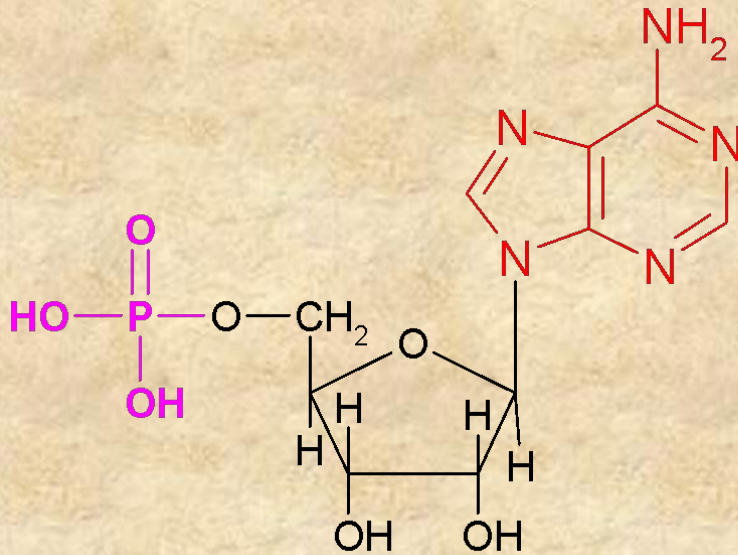


# Нуклеотиды

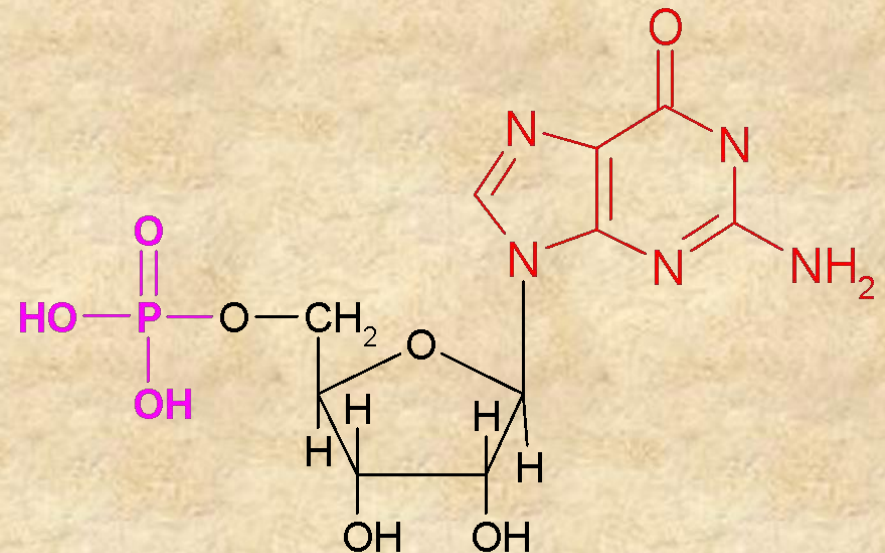
- **Нуклеотиды** - фосфорные эфиры нуклеозидов



# Номенклатура нуклеотидов



Аденозин-5'-фосфат  
Аденозинмонофосфат (АМФ)  
5'-адениловая кислота



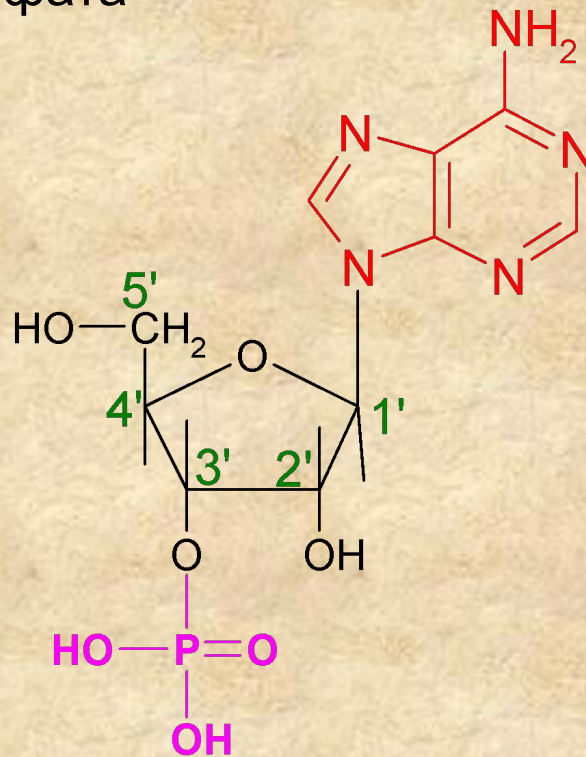
Гуанозин-5'-фосфат  
Гуанозинмонофосфат (ГМФ)  
5'-гуаниловая кислота

# Нуклеотиды

| Название как монофосфатов | Название как кислот           | Сокращение |
|---------------------------|-------------------------------|------------|
| Аденозин-5'-фосфат        | 5'-Адениловая кислота         | АМФ        |
| Гуанозин-5'-фосфат        | 5'-Гуаниловая кислота         | ГМФ        |
| Цитидин-5'-фосфат         | 5'-Цитидиловая кислота        | ЦМФ        |
| Уридин-5'-фосфат          | 5'-Уридиловая кислота         | УМФ        |
| Дезоксиаденозин-5'-фосфат | 5'-Дезоксиадениловая кислота  | дАМФ       |
| Дезоксигуанозин-5'-фосфат | 5'-Дезоксигуаниловая кислота  | дГМФ       |
| Дезоксицитидин-5'-фосфат  | 5'-Дезоксицитидиловая кислота | дЦМФ       |
| Тимидин-5'-фосфат         | 5'-Тимидиловая кислота        | дТМФ       |

# Номенклатура нуклеотидов

Сокращения АМФ, ГМФ и т.д. относят к 5'-нуклеотидам.  
У других нуклеотидов в сокращённом названии указывают положение фосфата



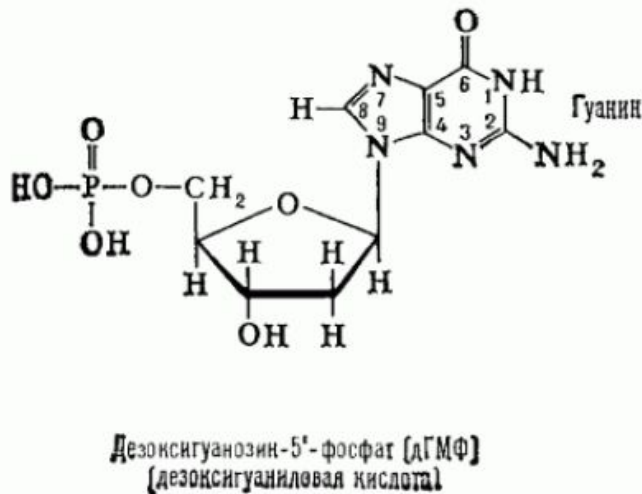
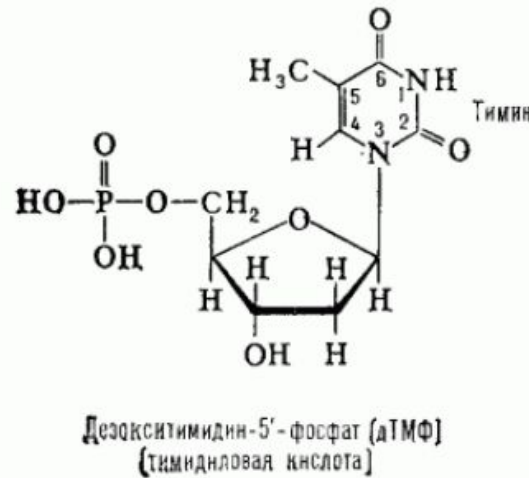
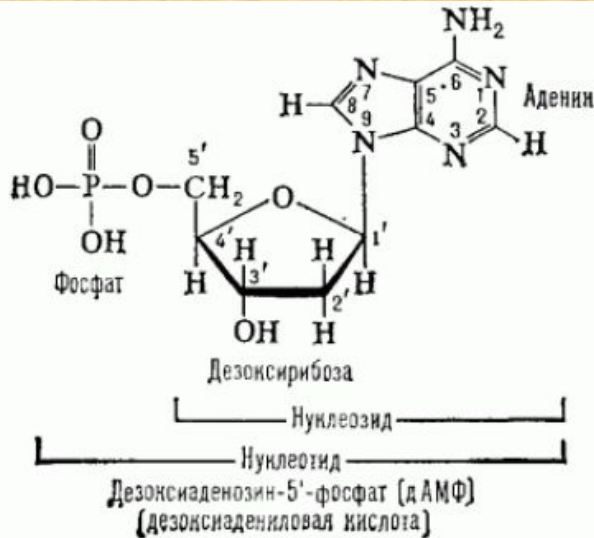
Аденозин-3'-фосфат

3'- Аденозинмонофосфат (3'- АМФ)

3'-адениловая кислота

# Нуклеотиды

- У рибонуклеотидов остаток фосфорной кислоты может находиться в положениях 2' и 3' и 5', у дезоксирибонуклеотидов – в положениях 3' и 5'. В зависимости от числа имеющих в молекуле нуклеотида остатков фосфорной кислоты различают моно-, ди- и трифосфаты нуклеозидов.



Важнейшие нуклеотиды, входящие в состав ДНК.

Нуклеотиды – сильные кислоты, так как остаток фосфорной кислоты, входящей в их состав, сильно диссоциирован.

# Конформации

## Фосфатная группа

Диметил фосфат :  $\text{CH}_3\text{-O-(}\alpha\text{)-PO}_2\text{-(}\xi\text{)-O-CH}_3$

| $\alpha$ | $\xi$ |    |
|----------|-------|----|
| g-       | g-    | ** |
| g-       | t     | *  |
| g+       | g+    |    |
| g+       | t     |    |
| t        | g+    |    |
| t        | g-    | *  |

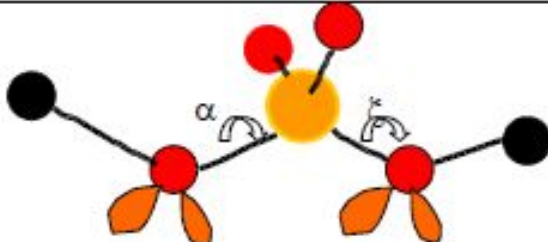


Рис.10-10.  
конформации определяются взаимодействием неподеленных пар на атомах фосфо-диэфирных кислородов

$U(\alpha, \xi) = 0.6[2 + \cos(2\alpha) + \cos(2\xi)] + 0.9[2 + \cos(3\alpha) + \cos(3\xi)]$ ,  
kcal/mol

\* - предпочтительны в кристаллических структурах

Три оптимальных состояния :  
(g-,g-), (g-,t), (t,g-)

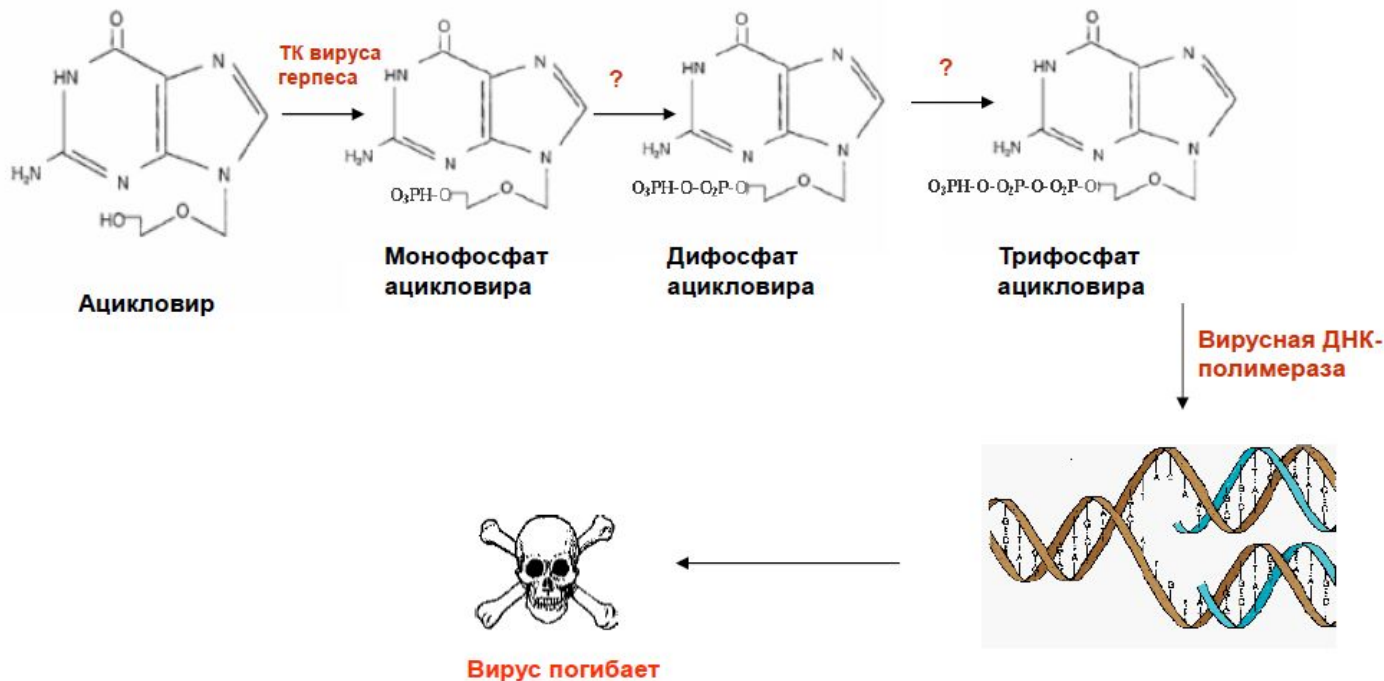
# Биохимические функции нуклеотидов

- 1) являются строительными блоками нуклеиновых кислот (ДНК и РНК); участвуют в молекулярных механизмах, с помощью которых генетическая информация хранится, реплицируется и транскрибируется;
- 2) выполняют важную роль в энергетическом (фосфорном) обмене, в аккумуляции и переносе энергии;
- 3) служат агонами (коферментами и активными простетическими группами) в окислительно-восстановительных ферментах;
- 4) играют важную роль в синтезе олиго- и полисахаридов, жиров.

**Таким образом, нуклеотиды – универсальные биомолекулы, играющие фундаментальную роль в обмене веществ и энергии живой клетки.**

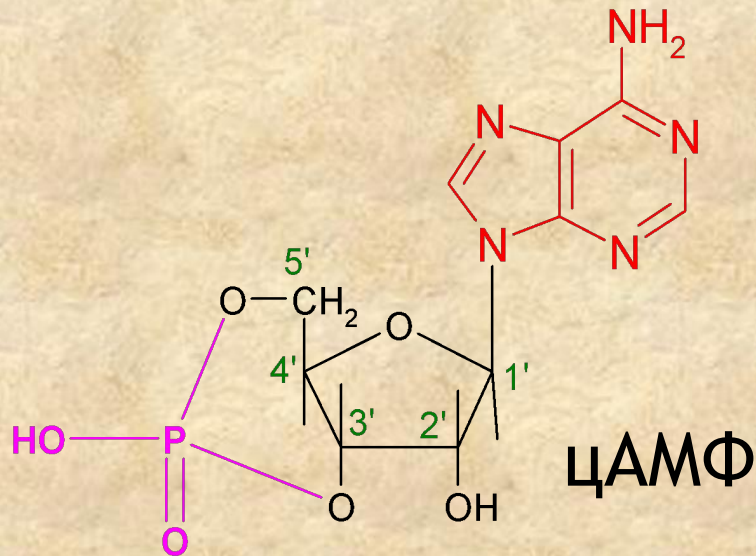
# Модифицированные нуклеозиды

Основное достоинство ацикловира заключается в том, что незараженные клетки человека не могут достаточно эффективно фосфорилировать ацикловир, и поэтому ацикловир монофосфат образуется преимущественно в инфицированных клетках, которые имеют в своем распоряжении необходимый вирусный фермент. Под действием клеточных ферментов ацикловир монофосфат превращается в трифосфат, который уже непосредственно «вносит» свои коррективы в синтез «дочерней» вирусной ДНК. Во-первых, он угнетает вирусную ДНК-полимеразу (правда, действуя при этом и на клеточную ДНК-полимеразу, только гораздо слабее). А, во-вторых, включаясь в растущую цепь вирусной ДНК, он тем самым останавливает ее рост.

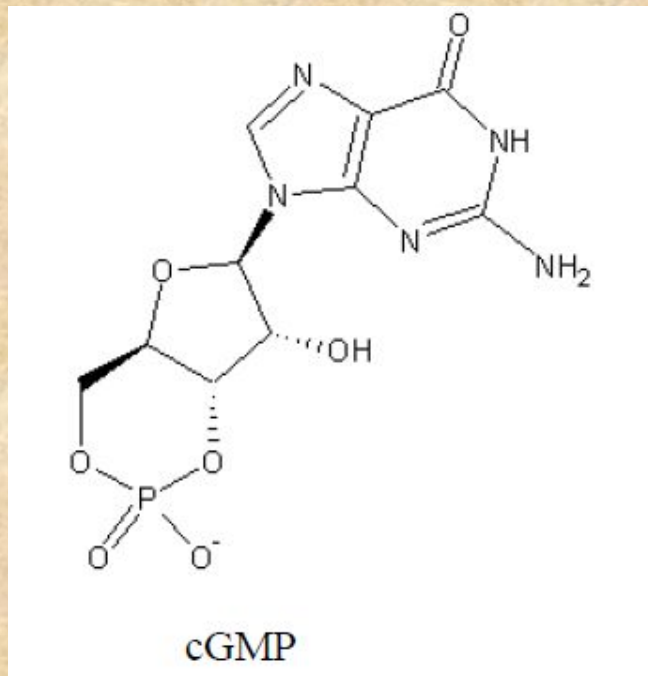


Ацикловир – самое распространенное противогерпетическое лекарственное средство. **Убирает симптомы заболевания, но не излечивает!**

# Циклические нуклеотиды



Циклические нуклеотиды – это нуклеотиды, у которых образуется химическая связь между двумя атомами углерода рибозы.



Циклический аденозинмонофосфат (циклический АМФ, цАМФ, сАМР) — Циклический нуклеотид, играющий роль **вторичного посредника** некоторых гормонов (глюкагона или адреналина), которые не могут проходить через клеточную мембрану. У прокариот **цАМФ** участвует в регуляции метаболизма.

# Нуклеиновые кислоты

Нуклеиновые кислоты хорошо растворимы в воде, практически не растворимы в органических растворителях. Очень чувствительны к действию температуры и критическим значениям уровня pH. Молекулы ДНК с высокой молекулярной массой, выделенные из природных источников, способны фрагментироваться под действием механических сил, например при перемешивании раствора.

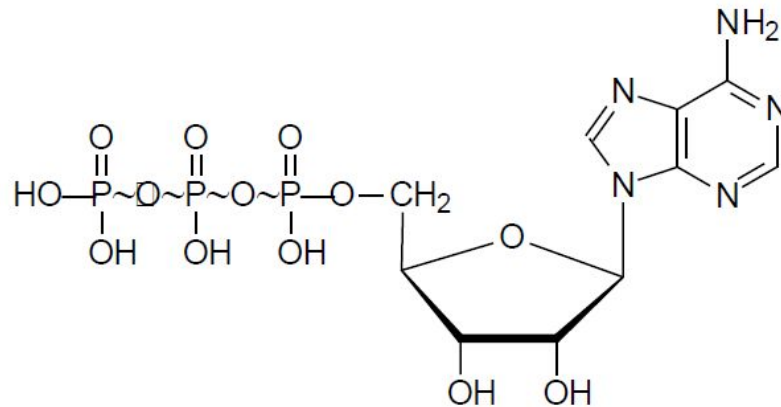
Нуклеиновые кислоты фрагментируются ферментами — нуклеазами.

Полимерные формы нуклеиновых кислот называют полинуклеотидами. Цепочки из нуклеотидов соединяются через остаток фосфорной кислоты (фосфодиэфирная связь). Поскольку в нуклеотидах существует только два типа гетероциклических молекул, рибоза и дезоксирибоза, то и имеется лишь два вида нуклеиновых кислот — дезоксирибонуклеиновая (ДНК) и рибонуклеиновая (РНК).

Мономерные формы также встречаются в клетках и играют важную роль в процессах передачи сигналов или запасании энергии. Наиболее известный мономер РНК — АТФ, аденозинтрифосфорная кислота, важнейший аккумулятор энергии в клетке.

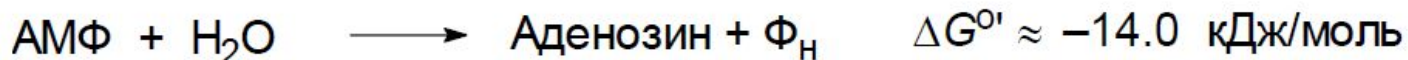
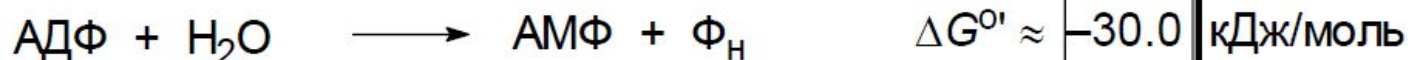
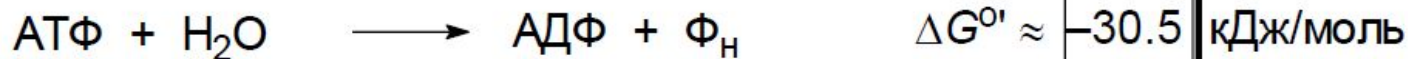
## Аденозин-5'-трифосфат АТФ

– энергетическая валюта в биологии



*первичный источник энергии для многих биологических реакций*

### Гидролиз АТФ по стадиям



# Нуклеиновые кислоты

**ДНК (дезоксирибонуклеиновая кислота).** Сахар — дезоксирибоза, азотистые основания: пуриновые — гуанин (G), аденин (A), пиримидиновые — тимин (T) и цитозин (C). ДНК часто состоит из двух полинуклеотидных цепей, направленных антипараллельно.

- **РНК (рибонуклеиновая кислота).** Сахар — рибоза, азотистые основания: пуриновые — гуанин (G), аденин (A), пиримидиновые — урацил (U) и цитозин (C). Структура полинуклеотидной цепочки аналогична таковой в ДНК. Из-за особенностей рибозы молекулы РНК часто имеют различные вторичные и третичные структуры, образуя комплементарные участки между разными цепями.

## Основные виды РНК:

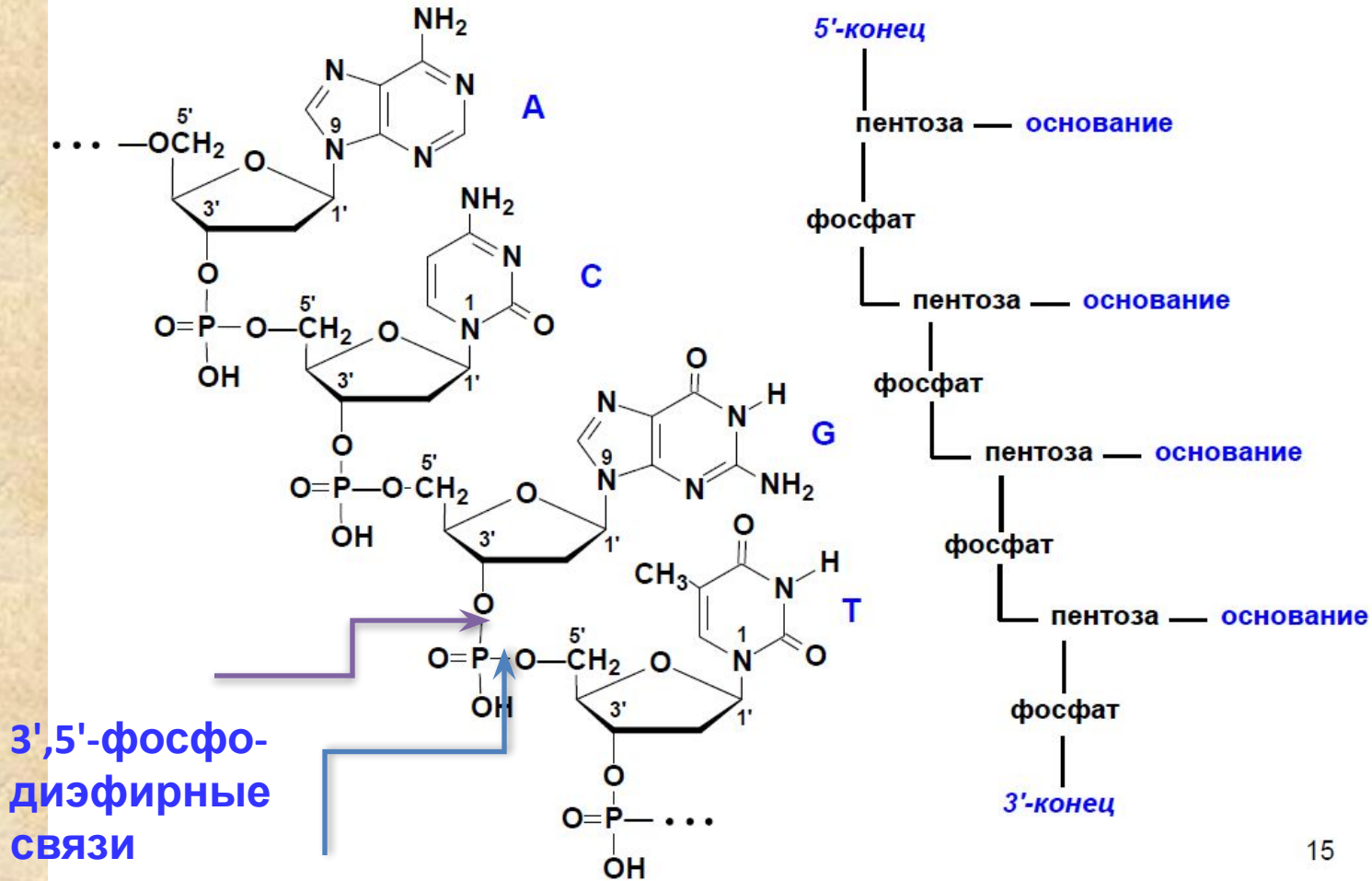
- матричные (мРНК);
- рибосомные (рРНК);
- транспортные (тРНК).

# Первичная структура ДНК и РНК

## Первичная структура нуклеиновых кислот (ДНК и РНК)

- определяется последовательностью нуклеотидов в полинуклеотидной цепи
- Нуклеотиды соединяются с помощью ковалентных 3', 5'- фосфодиэфирных связей
- за направление полинуклеотидной цепи принято направление от 5' → к 3'-концу

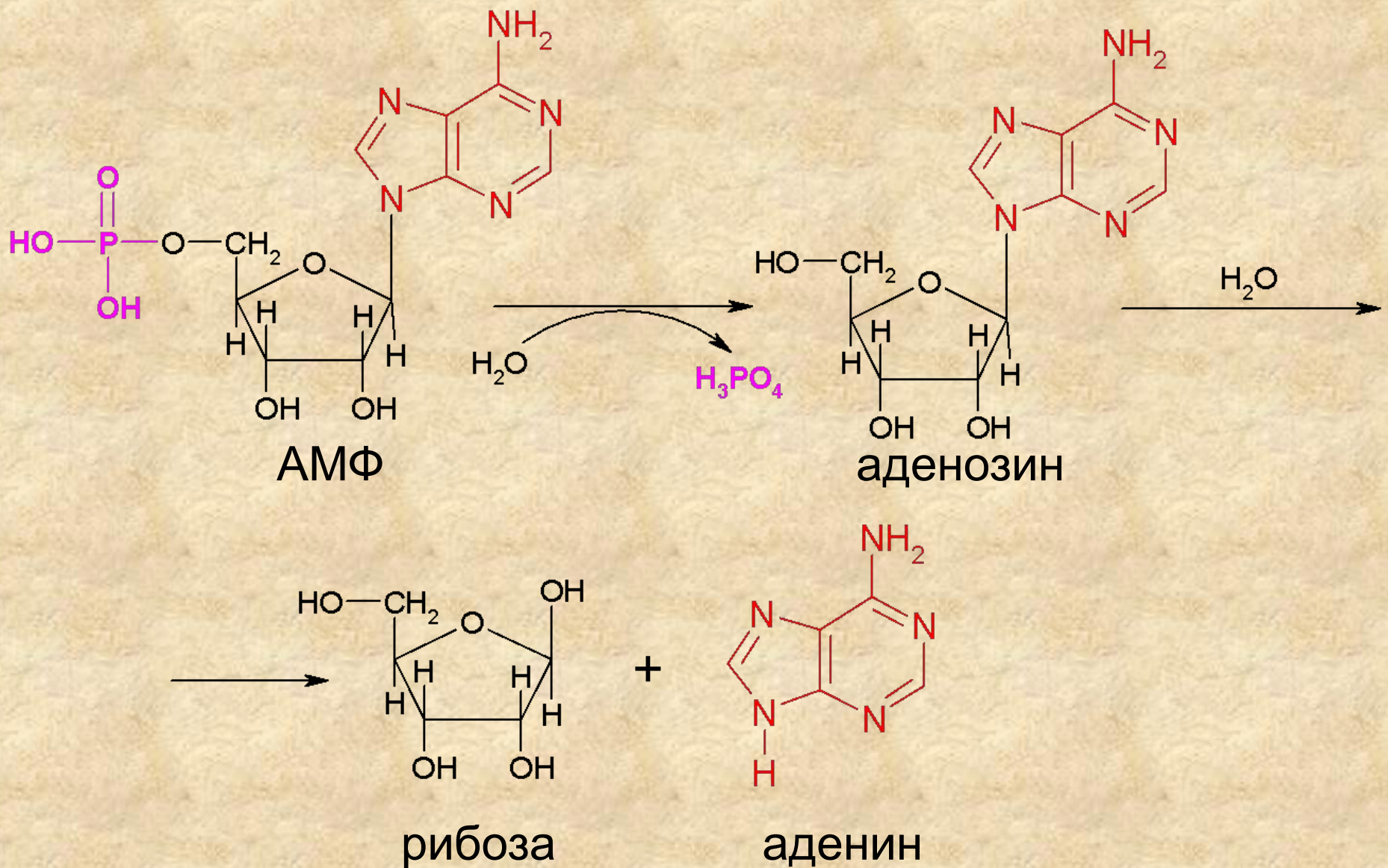
# Первичная структура ДНК и РНК



15

Первичная структура НК - последовательность нуклеотидов  
5'-конец ТГАЦТААГТАЦЦ 3'-конец  
(ф-конец) (ОН-конец)

# Гидролиз нуклеотидов



# Вторичная структура ДНК

## Модель Уотсона-Крика: ДНК является двуспиральной молекулой

- 1951 – Джеймс Уотсон и Френсис Крик начали изучать профили дифракции рентгеновских лучей на препаратах ДНК.
- К этому времени была известна химическое строение нуклеотидов (дезоксирибоза, фосфатная группа, азотистое основание).
- Эрвин Чаргафф начал исследовать количественный состав азотистых оснований в молекулах ДНК различных организмов.
- Розалин Франклин и Морис Уилкинс начали рентгено-структурный анализ препаратов ДНК.

# Вторичная структура ДНК

**1962: Нобелевская премия по физиологии и медицине**



James D.  
Watson



Francis H.  
Crick



Maurice H. F.  
Wilkins

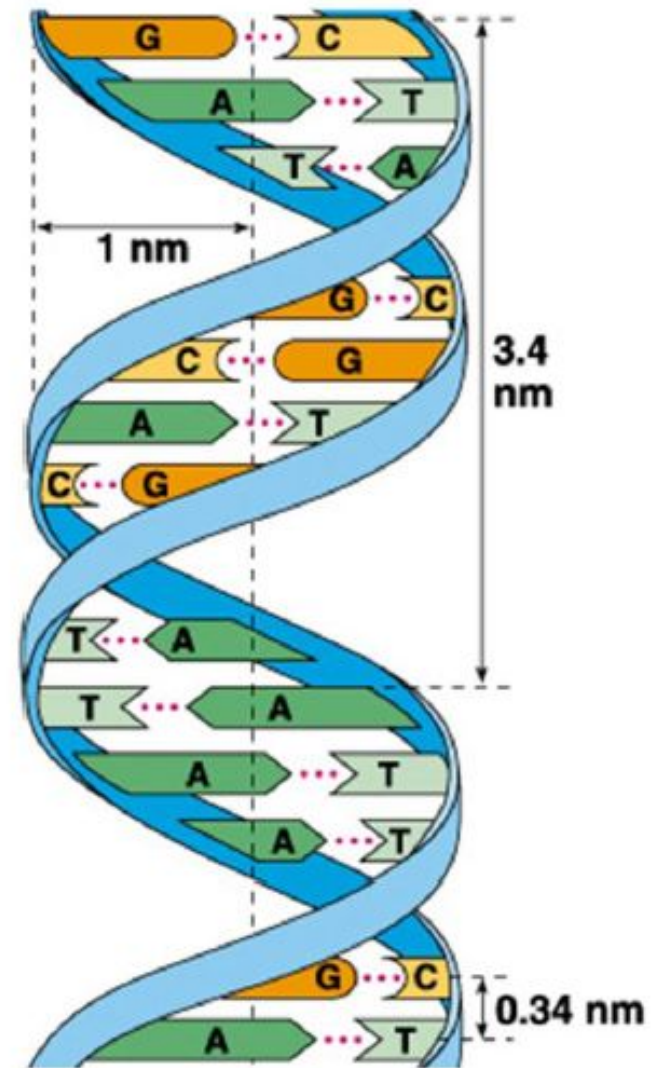


# Вторичная структура ДНК

ДНК представляет собой двойную спираль. Ее молекула образована двумя полинуклеотидными цепями, спирально закрученными друг около друга, и вместе вокруг воображаемой оси.

Диаметр двойной спирали ДНК — 2 нм, шаг общей спирали, на который приходится 10 пар нуклеотидов — 3,4 нм. Длина молекулы — до нескольких сантиметров.

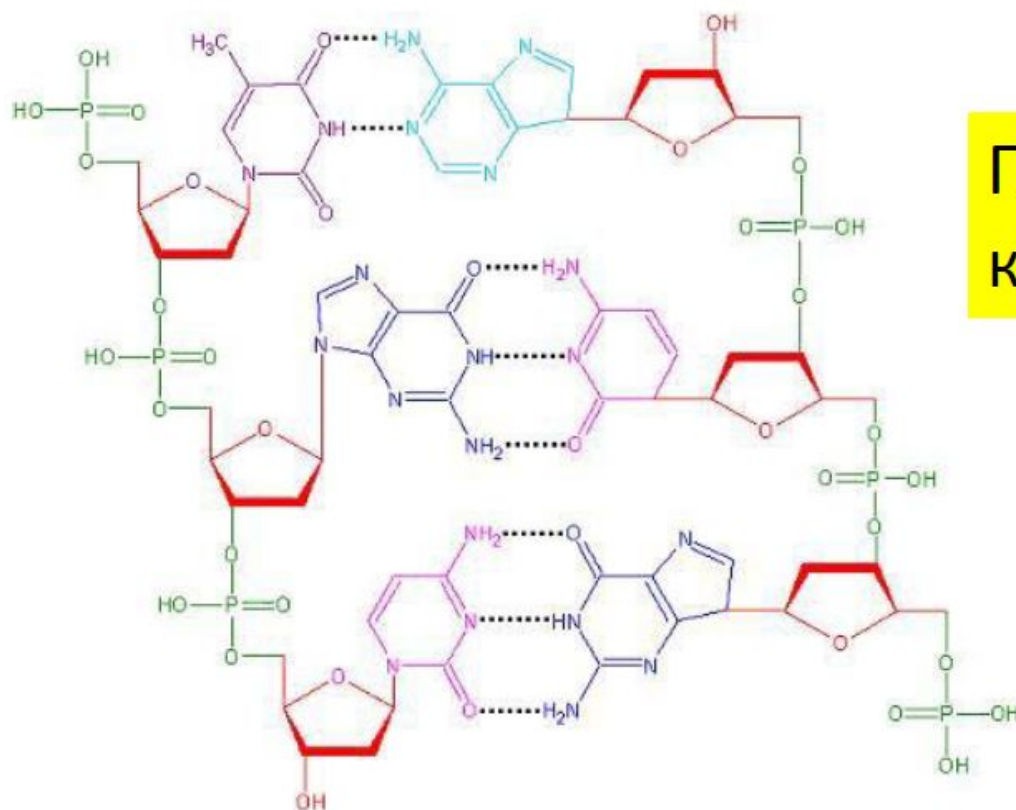
Молекулярный вес составляет десятки и сотни миллионов. В ядре клетки человека общая длина ДНК около 2 м.



# Вторичная структура ДНК

В формировании вторичной структуры ДНК участвуют следующие типы взаимодействий:

- **водородные связи** между комплементарными основаниями (две — между аденином и тимином, три — между гуанином и цитозином);



Принцип  
комплементарности

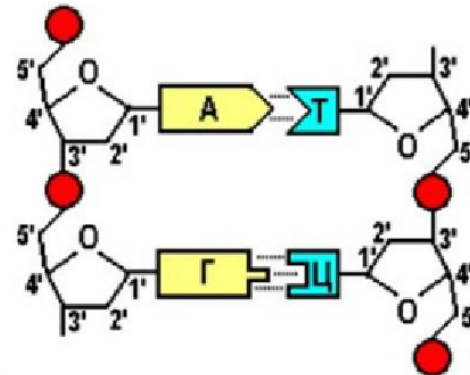
# Вторичная структура

Вторичная структура ДНК – двойная правая спираль (Уотсон, Крик, 1953)  
Две цепи антипараллельны друг другу.

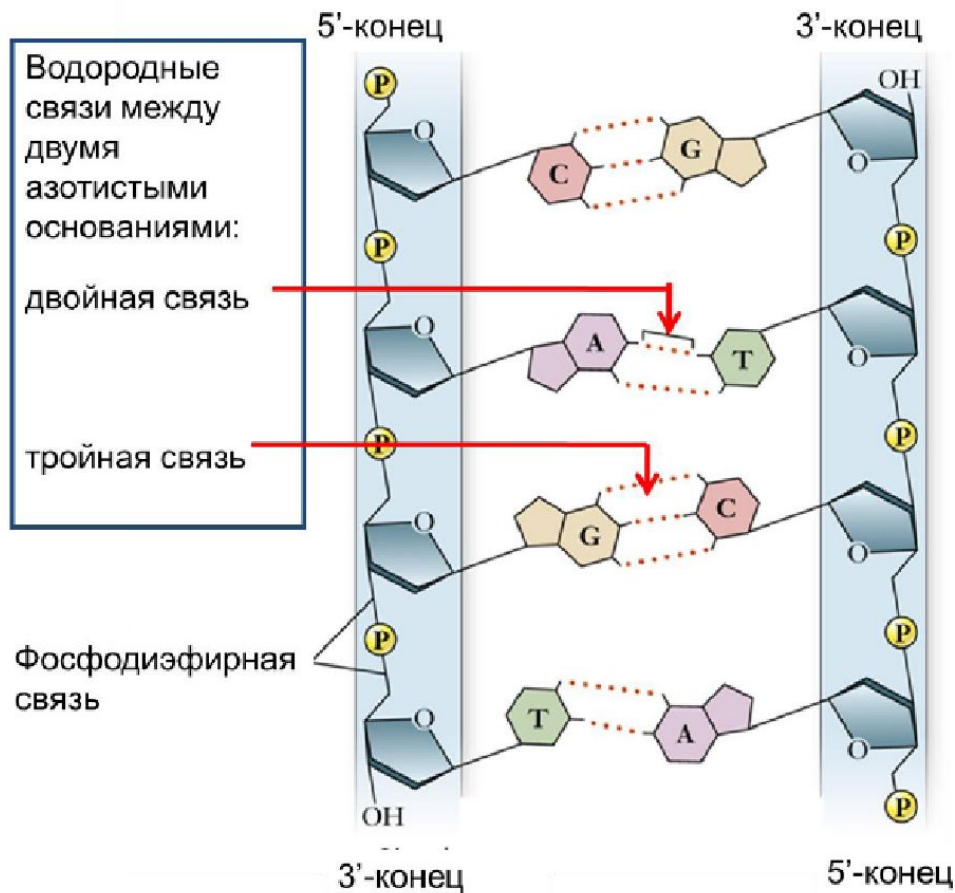
Против одной цепи нуклеотидов располагается вторая цепь. Полинуклеотидные цепи в молекуле ДНК удерживаются друг около друга благодаря возникновению **водородных связей между азотистыми основаниями нуклеотидов**, располагающихся друг против друга.

В основе лежит принцип **комплементарного** взаимодействия пар оснований: против **аденина** - **тимин** на другой цепи, а против **гуанина** - **цитозин** на другой, то есть **аденин комплементарен тимину** и между ними **две водородные связи**, а гуанин — цитозину (три водородные связи).

**Комплементарность** называют способность нуклеотидов к избирательному соединению друг с другом.



# Вторичная структура ДНК



Значительное количество доноров и акцепторов водородной связи атомов оснований и рибозы допускает большое количество конфигураций пар оснований, взаимодействующих несколькими водородными связями

# Образование связей между основаниями

- Каждое основание на одной из цепей связывается с одним определённым основанием на второй цепи. Такое специфическое связывание называется комплементарным. Каждое основание на одной из цепей связывается с одним определённым основанием на второй цепи. Такое специфическое связывание называется комплементарным. Пурины Каждое основание на одной из цепей связывается с одним определённым основанием на второй цепи. Такое специфическое связывание называется комплементарным. Пурины комплементарны пиримидинам Каждое основание на одной из цепей связывается с одним определённым основанием на второй цепи. Такое специфическое связывание называется комплементарным. Пурины комплементарны пиримидинам (то есть, способны к образованию водородных связей с ними): аденин образует связи только с тиминам, а цитозин — с гуанином. В двойной спирали цепочки также связаны с помощью гидрофобных связей Каждое основание на одной из цепей связывается с одним определённым основанием на второй цепи. Такое специфическое связывание называется комплементарным. Пурины комплементарны пиримидинам (то есть, способны к образованию водородных связей с ними): аденин образует связи только с тиминам, а цитозин — с гуанином. В двойной спирали цепочки также связаны с помощью гидрофобных связей и стэкинга, которые не зависят от последовательности оснований ДНК.
- Комплементарность двойной спирали означает, что информация, содержащаяся в одной цепи, содержится и в другой цепи. Обратимость и специфичность взаимодействий между комплементарными парами оснований важна для репликации ДНК и всех остальных функций ДНК в живых организмах.

# Взаимодействия копланарных оснований

- значительное количество доноров и акцепторов водородной связи атомов оснований и рибозы допускает большое количество конфигураций пар оснований, взаимодействующих несколькими водородными связями

## Номенклатура типов конфигураций взаимодействующих пар

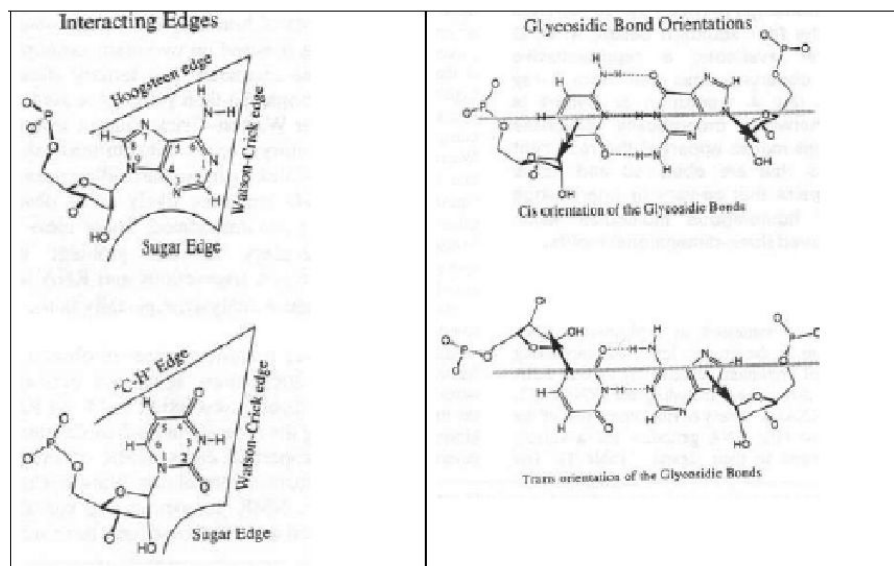


Рис.11-2.

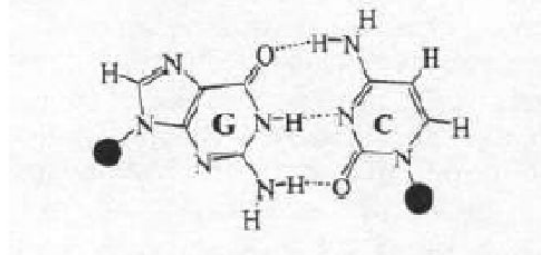
Максимальное количество конфигураций для пары оснований X-Y  
Гребни(X)\*гребни(Y)\*Ориентации Гликозидной связи(X-Y) =  
 $3 \cdot 3 \cdot 2 = 18$

Максимальное количество конфигураций для всех возможных пар оснований (A,G,C,T) :  $4 \cdot 3 \cdot 18 = 216$

# Канонические пары оснований – комплементарные пары

Cis/WC-WC

**G = C**



Cis/WC-WC

**A – U**

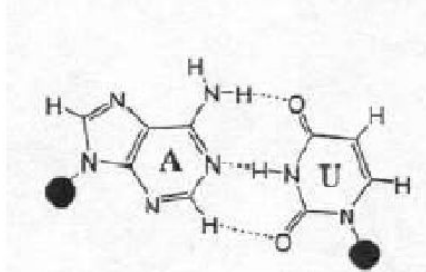


Рис. 11-3.

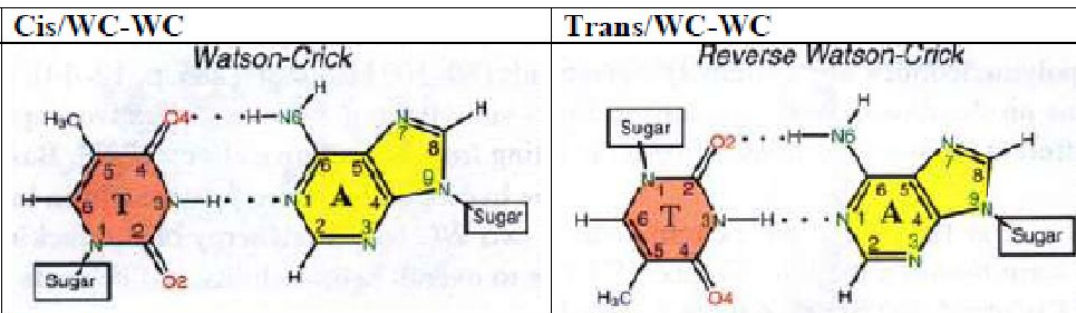


Рис. 11-4.

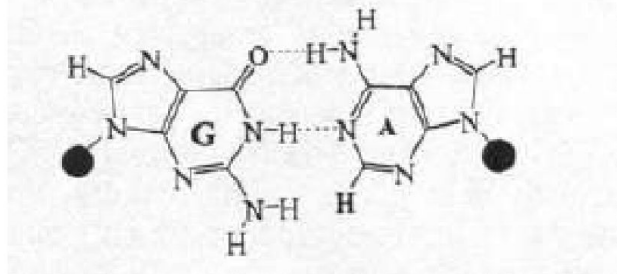
Энергия Н-связей:  
WC(GC) > WC(AT) (AU)

**Энергии копланарных взаимодействий оснований**  
для 20 конфигураций пар, образующих две и более Н-связи варьируют:  
-21.0 (GC) > -19.5 (GG) > -16.9 (AG) > -12.5 (AT) > ... > -4.4 (TC)

# Не канонические пары оснований

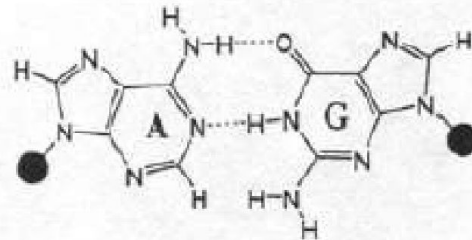
Cis/WC-WC

G  $\leftrightarrow$  A



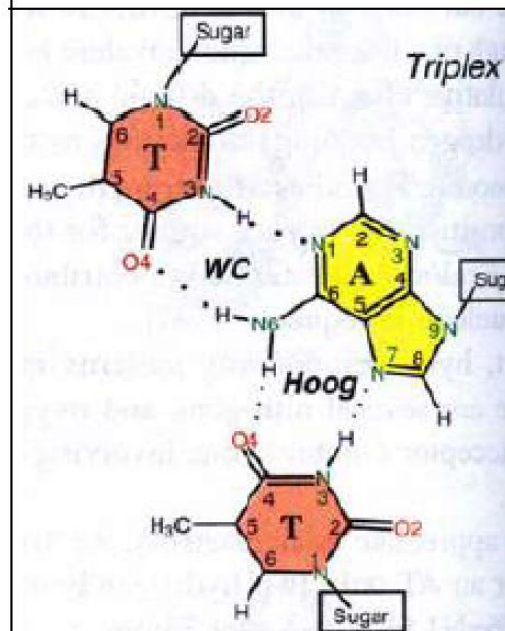
Cis/WC-WC

A  $\leftrightarrow$  G

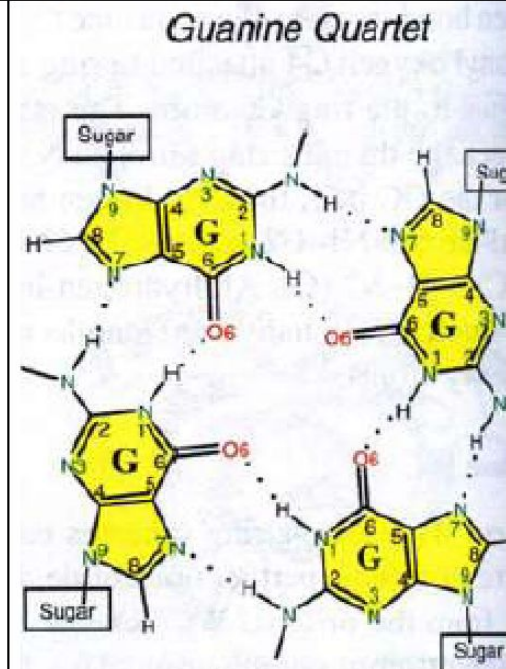


Триплеты и квартеты копланарных оснований

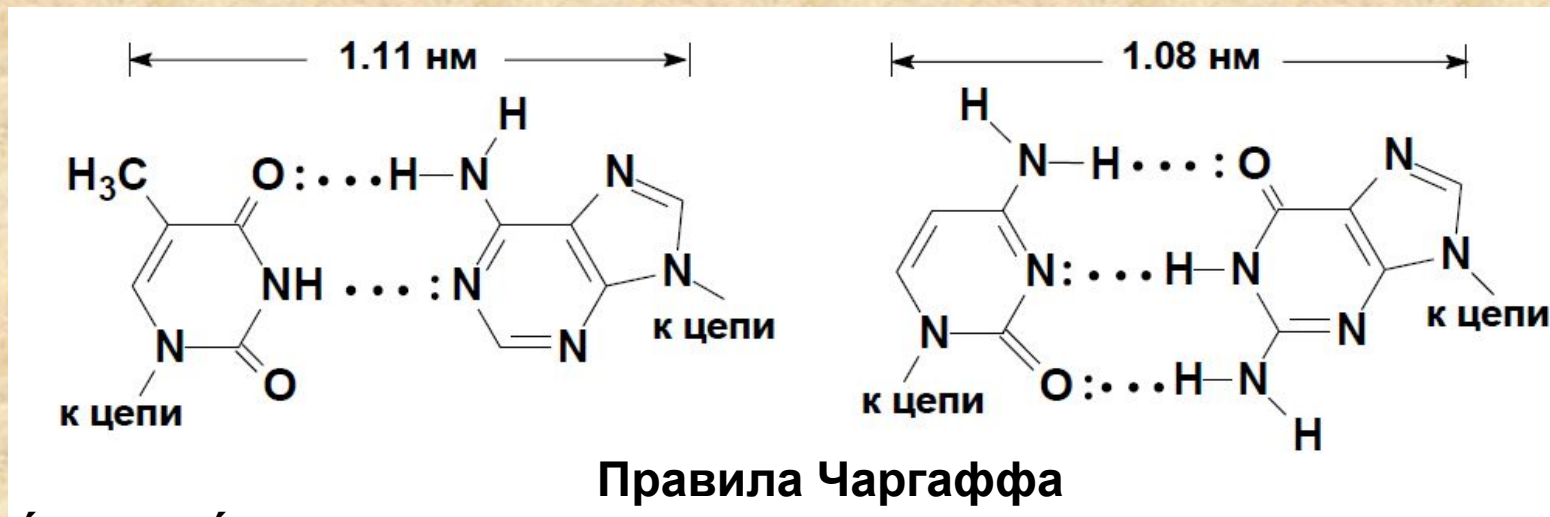
Cis/WC-WC+cis/HS-WC



Cis/WC-HS+cis/WC-HS+ cis/WC-HS+ cis/WC-HS+



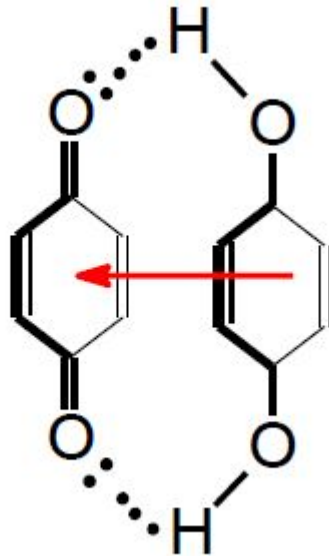
# Комплементарные пары нуклеиновых оснований



**Правила Чаргаффа** — система эмпирически выявленных правил, описывающих количественные соотношения между различными типами азотистых оснований в ДНК. Были сформулированы в результате работы группы биохимика Эрвина Чаргаффа в 1949—1951 гг.

1. Количество аденина равно количеству тимина, а гуанина — цитозину:  $A=T$ ,  $G=C$ .
  2. Количество пуринов равно количеству пиримидинов:  $A+G=T+C$ .
  3. Количество оснований с аминогруппами в положении 6 равно количеству оснований с кетогруппами в положении 6:  $A+C=G+T$ .
- Вместе с тем, соотношение  $(A+T):(G+C)$  может быть различным у ДНК разных видов.

# Стекинг-взаимодействие



Основания в цепи ДНК лежат друг над другом в стопке, что обеспечивает дополнительную стабилизацию цепи - стекинг взаимодействие. Причина стекинг взаимодействия между основаниями:  $\text{пури́н-пури́н} > \text{пиримидин-пиримидин}$ . В олиго- и полинуклеотидах стекинг между соседними основаниями приводит к формированию стабильной одноцепочечной спиральной структуры (polyA), а отсутствие стекинга к разупорядоченному клубку (polyU). Энергия стекинг- взаимодействий  $\sim -3 - -15$  ккал/моль.

Ширина двойной спирали составляет от 22 до 24 Å, или 2,2 — 2,4 нм, длина каждого нуклеотида 3,3 Å (0,33 нм)

В двойной спирали различают малую (12 Å) и большую (22 Å) бороздки. Белки, например, факторы транскрипции, которые присоединяются к определённым последовательностям в двухцепочечной ДНК, обычно взаимодействуют с краями оснований в большой бороздке, где те более доступны.

# Стэкинг-взаимодействие

При этом оказывается, что стэкинг-взаимодействие между основаниями довольно специфично: полярные заместители одного основания,  $-\text{NH}_2$ ,  $=\text{N}-$ ,  $=\text{O}$  нависают над ароматическим кольцом соседнего основания. Такого рода специфичность стэкинга даже более выражена, чем специфичность при образовании водородных связей.

**Стопочные взаимодействия –**  
ван дер ваальсовы взаимодействия

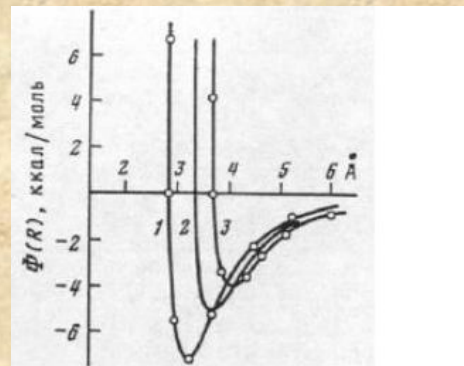


Таблица. Параметры стопочных ван дер ваальсовых взаимодействий  
Нуклеиновых оснований

| основание | d min, Å | - ε, ckal/mol |
|-----------|----------|---------------|
| A         | 3.25     | 7.2           |
| G         | 3.25     | 7.5           |
| T         | 3.35     | 5.9           |
| U         | 3.30     | 5.1           |
| C         | 3.25     | 5.4           |

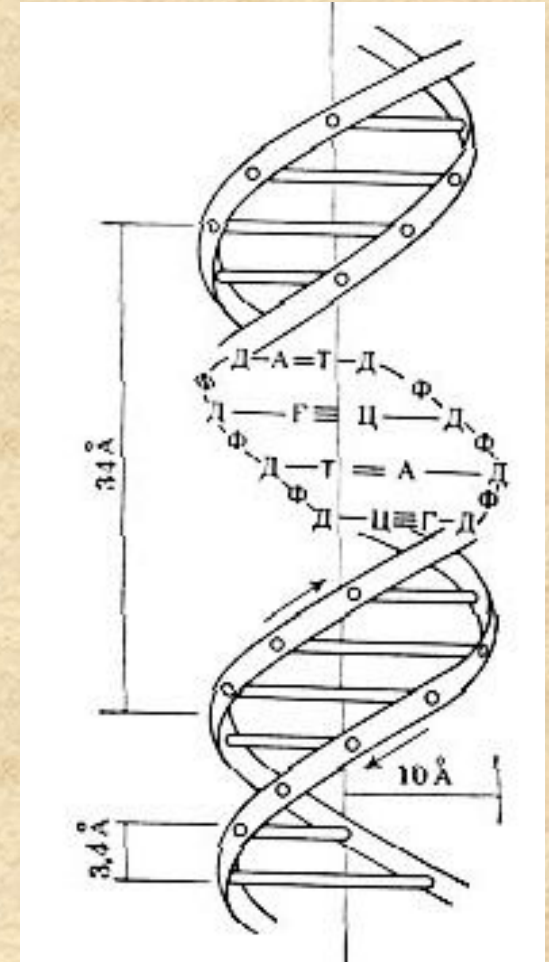
**Стопочные взаимодействия не параллельных плоскостей оснований**

быстро уменьшаются –  
Уменьшение энергии стопочных  
взаимодействий оснований A/A  
в непараллельной стопке, угол  
 $=0(1)$ ,  $20^\circ(2)$ ,  $30^\circ(3)$



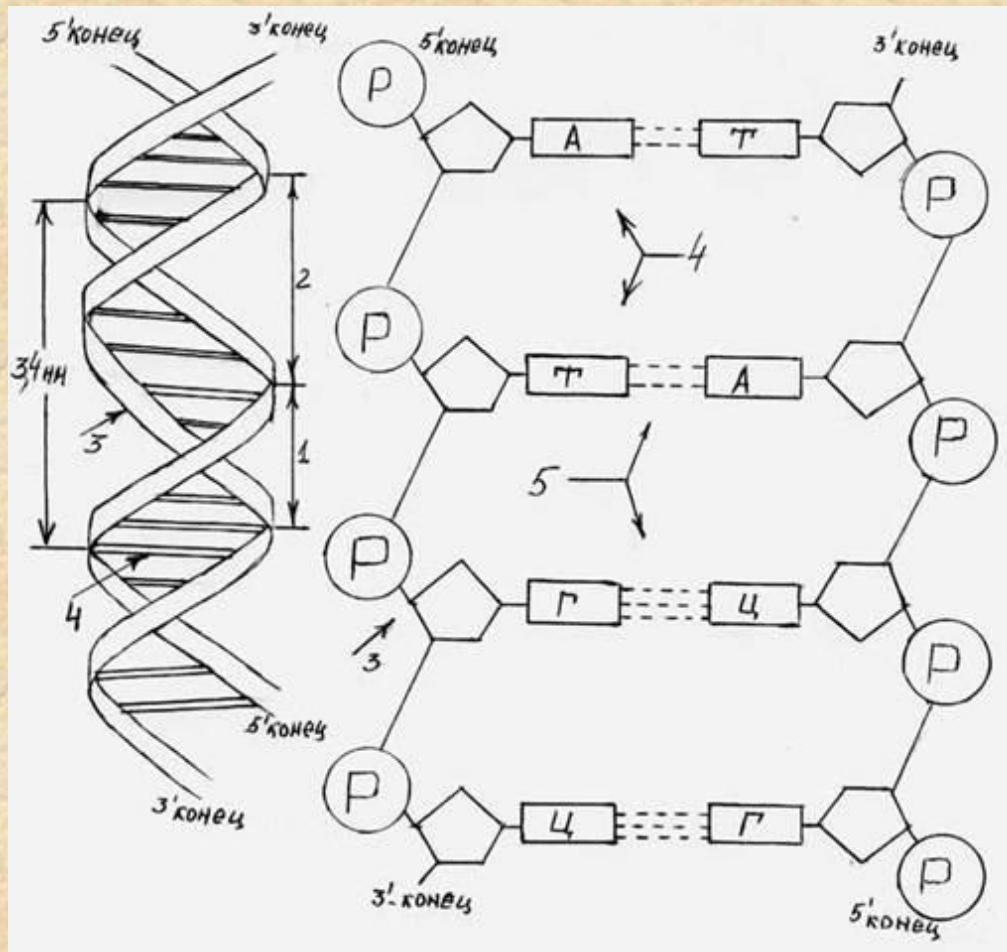
# Вторичная структура ДНК

- Диаметр спирали постоянен вдоль всей её длины и равен 2,0 нм. Пуриновые и пиримидиновые основания обеих цепей стекинг – взаимодействиями и уложены в «стопки» с интервалом 0,34 нм; плоскости колец слегка смещены относительно друг друга. Полный оборот спирали (длина витка спирали), который соответствует её периоду идентичности, равен 3,40 нм. На один виток спирали приходится 10 нуклеотидных остатков в одной цепи. В образованной структуре различают две бороздки: – большую шириной 2,2 нм; малую шириной 1,2 нм. Азотистые основания в области большой и малой бороздок взаимодействуют со специфическими белками, участвующими в организации хроматина.



Двойная спираль ДНК (по Дж. Уотсону и Ф. Крику)

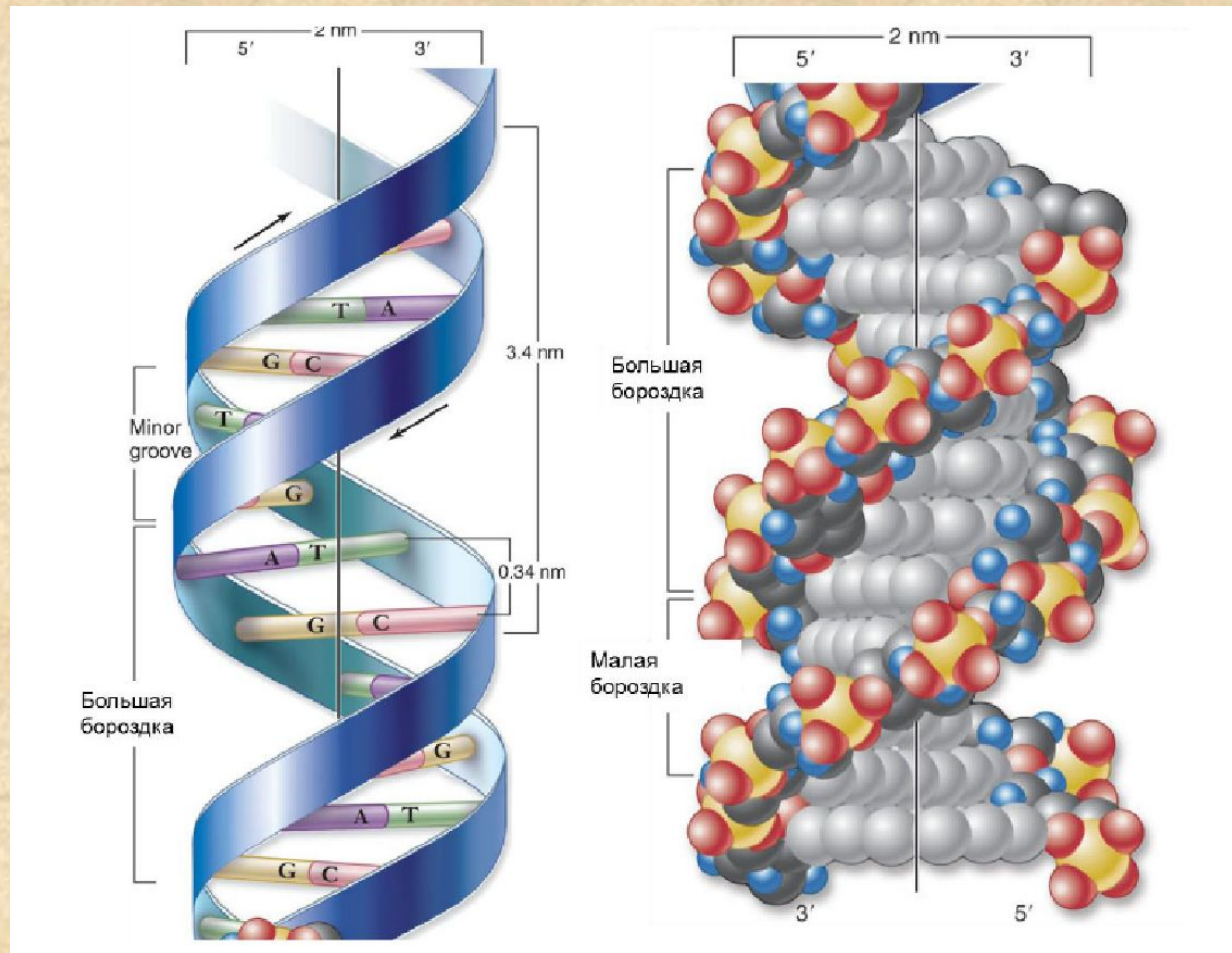
# Схематическое изображение структуры молекулы ДНК



1. Малая борозда; 2. Большая борозда; 3. Углеводно-фосфатный остов;
4. Азотистые основания; 5. Водородные связи между азотистыми основаниями.

Бороздка –элемент вторичной структуры ДНК -углубление между выступающими частями нуклеотидов; различают чередующиеся малую (между комплементарными основаниями, т.е «внутри» молекулы ДНК) и большую Б. ; в плоском продольном срезе большая и малая Б. составляют шаг спирали ДНК.

# Вторичная структура ДНК



# Спиральные параметры

- основные энергетические детерминанты
- канонические конформации нуклеотидов
- взаимодействия оснований :
  - компланарные комплиментарных пар
  - стопочные взаимодействия соседних по цепи пар оснований

Конформационные параметры двойной спирали – детальное расположение пар оснований

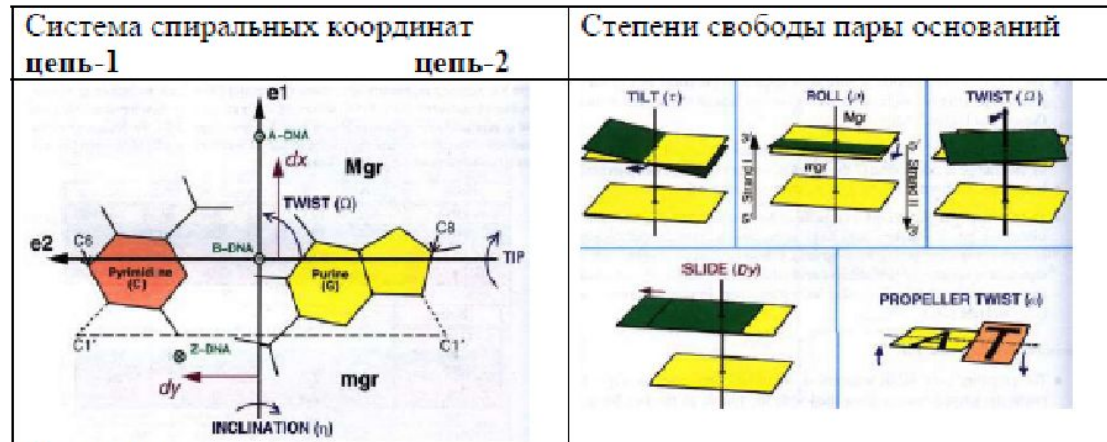
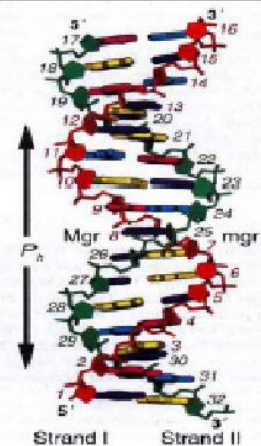


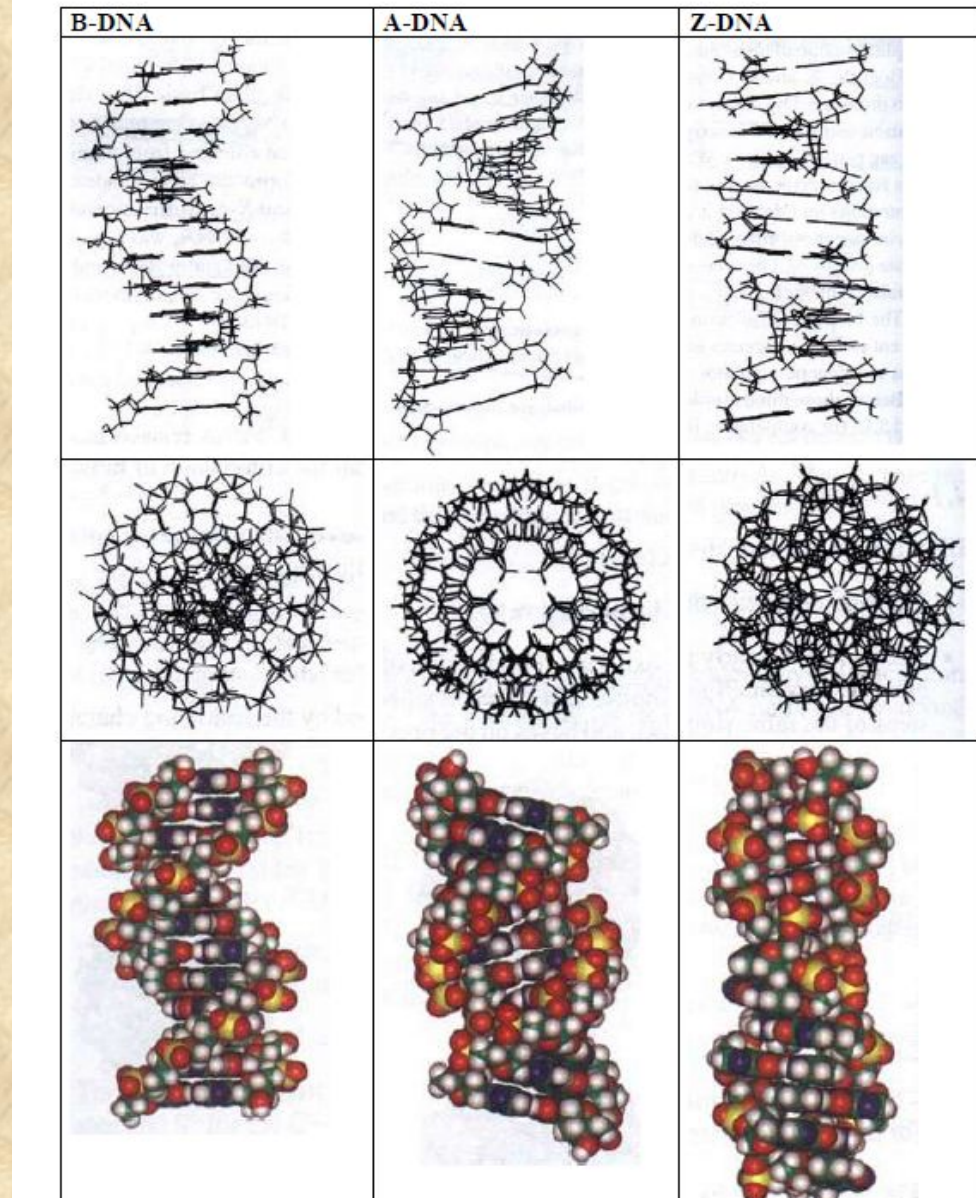
Рис. 11-14.

**Mgr** – большая бороздка  
**mgr** – малая бороздка  
 $P_h$  – шаг на один виток спирали  
 $n$  – число мономеров на виток  
 $h = P_h/n$  – шаг спирали на один мономер  
 $TIP = \theta - roll(x)$   
 inclination –  $\eta$ - tilt(y)  
 Twist(z) –  $\Omega$

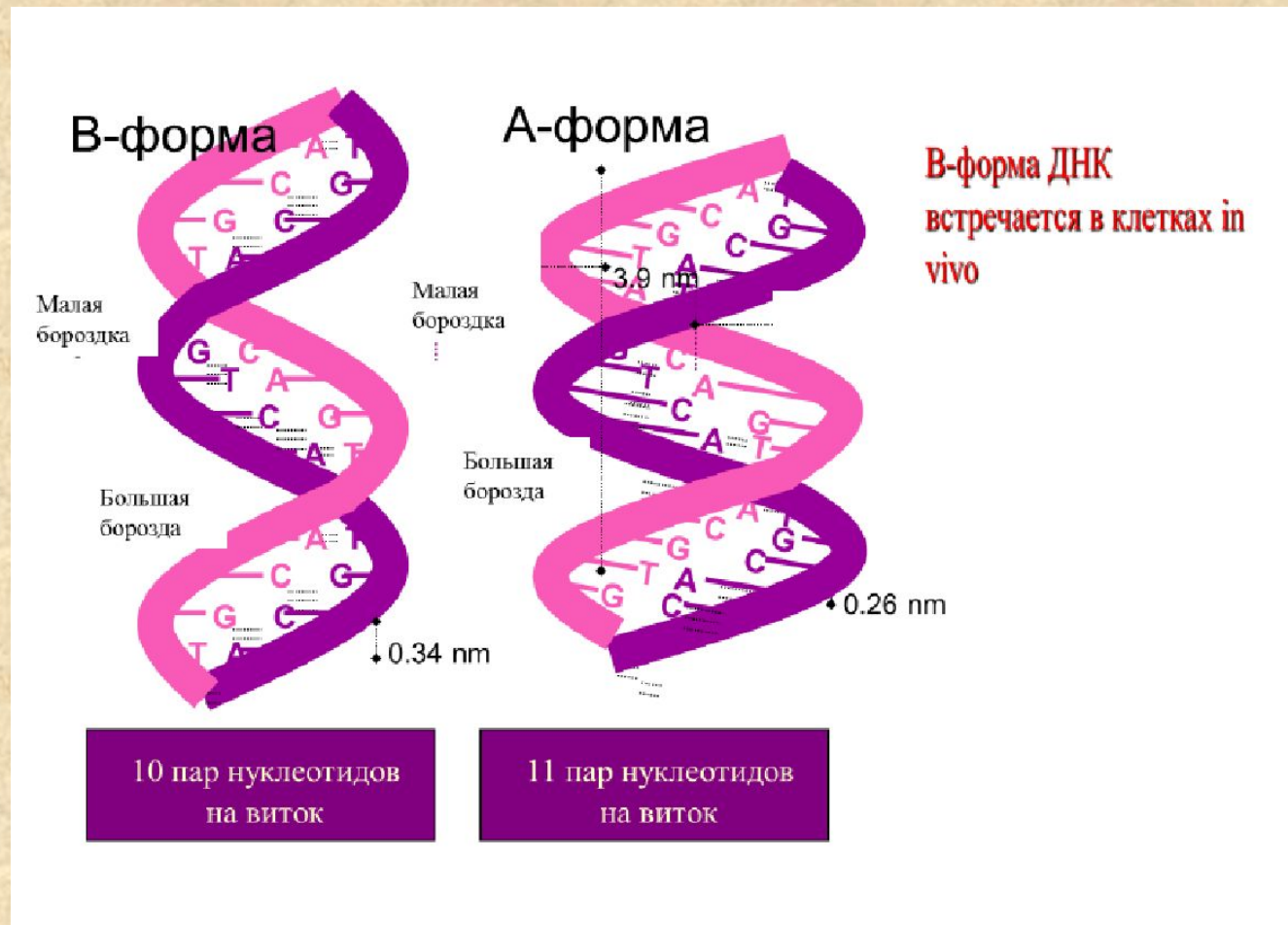


# Регулярные формы двойной спирали: А, В. 7

Молекулы ДНК могут находиться в различных конформационных состояниях в зависимости от степени обводненности биомолекулы, ионной силы окружающей среды, типов катионов, а также температуры.



# Формы двойной спирали: А, В, Z



# А-форма двойной спирали

Правозакрученные спирали образуют два семейства: А-семейство и В-семейство. А-семейство ДНК представлено так называемой А-формой ДНК, изученной Р. Франклиным и выделенной при малой влажности. Эта полиморфная форма ДНК имеет С3'-эндоконформацию сахара, что приводит к уменьшению расстояния между фосфатными группами и, следовательно, уменьшению расстояния между нуклеотидными парами вдоль оси спирали. Это в свою очередь ведет к увеличению количества нуклеотидов на витке спирали (11 нуклеотидных остатков на витке вместо десяти). Пары оснований в А-форме

А-форма – правозакрученная. Формируется при относительно низкой влажности. В этой форме находится в обычных условиях двойная спираль РНК, так как дополнительная гидроксильная группа сахара не дает возможность в этом случае уложить сахаро-фосфатную цепь РНК в В-спираль.

- на виток приходится 11 п.о.
  - расстояние между нуклеотидами – 2,56 Å.
  - пары оснований наклонены к плоскости горизонта на 20 градусов.
- Высота полного витка – 28 Å.



образуют с осью спирали угол около 20° и очень сильно отодвинуты от оси спирали к периферии молекулы: сдвиг достигает 0,4-0,5 нм т.е. почти половины радиуса. Вследствие этого А-форма ДНК при взгляде сверху вдоль оси спирали выглядит, как труба. В А-форме ДНК в стекинге участвуют основания, принадлежащие разным цепям, т.е. имеет место как одно-, так и двуцепочечный стекинг. Это связано с величиной угла наклона плоскостей оснований к оси спирали и углом поворота оснований вокруг оси спирали. В настоящее время доказано наличие А-формы ДНК у некоторых бактерий, превращающихся в споры в неблагоприятных условиях

# В-форма двойной спирали

Для В-форм ДНК характерно структурное разнообразие. Формы ДНК со случайными последовательностями могут находиться в В-, С-, D- и других конформационных состояниях при разных концентрациях ионов и температуры. Между этими различными формами осуществляются взаимные переходы, что обуславливается различиями в степени обводненности биомолекулы и ионной силы окружающей среды. Считают, что разные формы ДНК соответствуют различным функциональным состояниям. Так, А-форма характерна для процессов транскрипции; в репликативных процессах ДНК находится в В-форме; С-форма наиболее подходит для «упаковки» ДНК в надмолекулярные структуры и образования различных состояний хроматина, в том числе и для хранения информации.

**В-форма ДНК** характерна для живых клеток. В В-форме ДНК на виток спирали приходится около 10 пар оснований и расстояние между нуклеотидами вдоль оси спирали составляет от 3,3 до 3,4 Å. Эти характеристики и определяют макроскопическую структуру В-ДНК. Основания в В-форме ДНК находятся параллельно к плоскости. Диаметр спирали – 20 Å. Нуклеотиды отстоят друг от друга на 36 градусов.

В-ДНК

БОЛЬШАЯ  
БОРОЗДКА

МАЛАЯ  
БОРОЗДКА



# Формы двойной спирали: А, В, Z

- **С-форма:**

- 9,3 п.н./на виток,
- 0,19 нм диаметр молекулы

Шаг спирали 31 Å. Угол наклона нуклеотидов к плоскости – 6 градусов.

- **D-форма:**

- может быть, когда ДНК не содержит гуанина
- 8 п.н./на виток

Высота витка 24,3 Å, угол наклона к плоскости 16 градусов

- **E-форма:**

- также, как и D-форма, не содержит гуанина
- 7,5 п.н./на виток

- **P-форма:**

- Редко встречающаяся форма ДНК
- 2,62 п.н./на виток

# Z-форма ДНК

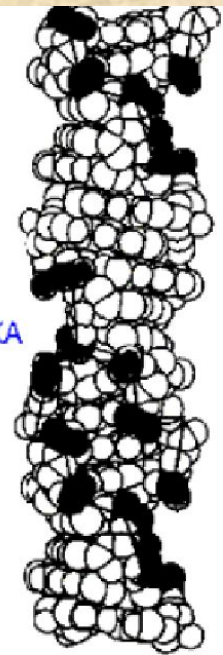
Z-форма ДНК имеет левозакрученную спираль и обнаружена у полинуклеотида с чередующейся последовательностью (dG-dC). Особенность Z-формы состоит в чередовании конформаций нуклеотидных остатков син- и антиконформаций нуклеотидов. Стекинг оснований обладает новыми, характерными лишь для этой спирали свойствами. Он имеет место между остатками цитозина противоположных цепей, а остатки гуанина вообще не взаимодействуют, а контактируют с соседними атомами дезоксицитидина. Фосфаты в Z-форме не эквивалентны друг другу. Фосфатный радиус спирали (расстояние фосфата до оси спирали) у d(CpG) равен 0,62 нм, у d(GpC) – 0,76 нм. Соседние сахара ориентированы в противоположные стороны, отчего линия, последовательно соединяющая атомы фосфора в цепи, приобретает изгибающийся вид. Возможны переходы ДНК из B-формы в Z-форму

Z-форма ДНК - левозакрученная (в отличие от А-ДНК и В-ДНК) спираль ДНК. Она была открыта в 1979 г. при исследовании структуры гексануклеотида d(CG). Если полинуклеотид poly(dG-dC) поместить в водный раствор с высокой концентрацией  $MgCl_2$ , NaCl или спирта, то образуется левая двойная спираль Z-ДНК.

Число оснований на виток – 12.  
Шаг спирали - 45,6 Å.  
Расстояние между нуклеотидами вдоль оси спирали - 7,43 Å.  
Наклон оснований к плоскости - 7 градусов.  
Высота витка в Z-форме - 44,5 Å.  
Z-форма не может существовать в водном растворе без дополнительных воздействий (белки или суперспирализация).

Z-ДНК

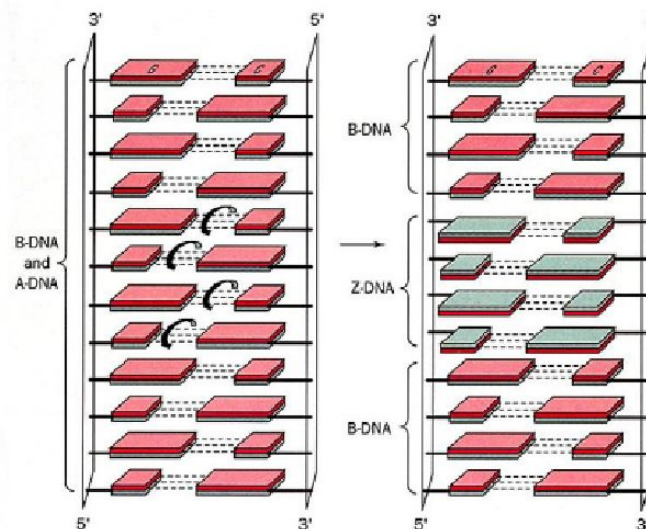
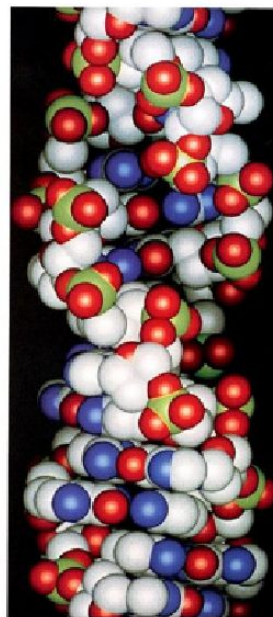
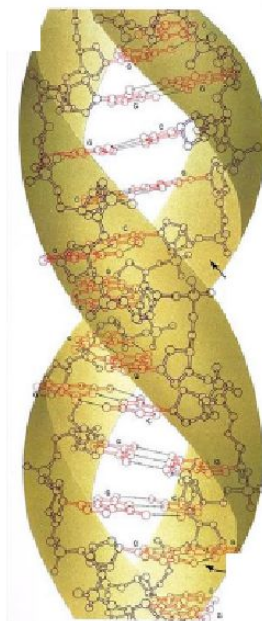
БОРОЗДКА



Z-форму стабилизируют спермин, двухвалентные катионы и введение определенных химических модификаций

# Z-форма ДНК

**Z форма** шаг 45,6 Å ; ~12 п.н. на виток

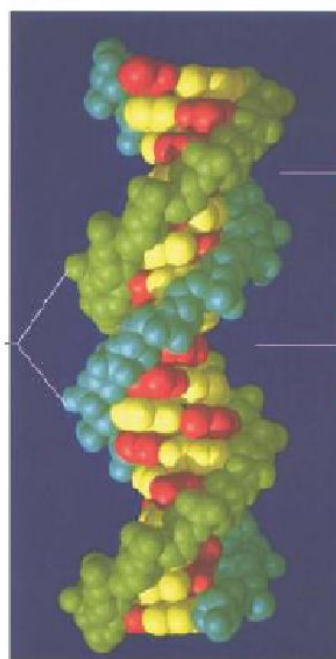


левозакрученная  
спираль

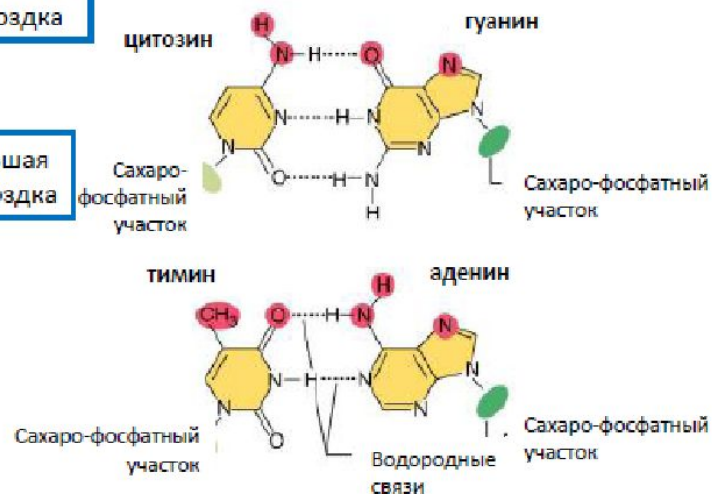
В Z ДНК основания  
перевернуты

Область перехода перемещается вдоль спирали в виде небольшой петли. Переход В-формы ДНК в Z-форму на небольшом участке молекулы ДНК оказывает очень сильное влияние на топологию сверхспиральной ДНК и используется клеткой в процессе экспрессии генов.

## Модель двойной спирали ДНК, показывающая возможность взаимодействия ДНК с белками



Белки могут взаимодействовать с ДНК путем прикрепления к атомам азотистых оснований в большой бороздке (указано красным цветом)



# Регулярные формы двойной спирали: A, B, Z

Значения спиральных параметров и структурные особенности

| параметр                                                                                 | A-DNA                                  | B-DNA                                      | Z-DNA                                                                   |
|------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------|--------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------|
| Спираль<br>Типичная<br>последовательность                                                | Правая<br>GGGGGG<br>G-богатые          | Правая<br>AAAAAA<br>A- богатые             | Левая<br>GCGCGCGCGC<br>Poly-(GC)                                        |
| Пар на виток<br>h, Å шаг на моном.<br>диаметр спирали, Å<br>шаг на виток                 | 11<br>2.6<br>26<br>28                  | 10<br>3.4<br>20<br>34                      | 12<br>3.8<br>18<br>45                                                   |
| Twist° - Ω<br>Вр наклон к оси° - η<br>Конформация<br>рибозы<br>Конф гликозидной<br>связи | 33<br>20<br>C3'-endo<br><br>анти       | 36<br>0<br>C2'-endo<br><br>анти            | -60 dimer<br>-7<br>C2'-endo (C)<br>C3'-endo (G)<br>анти (C )<br>син (G) |
| Большая бороздка<br><br>Малая бороздка                                                   | Узкая, глубокая<br><br>Широкая, мелкая | Широкая,<br>глубокая<br>Узкая,<br>глубокая | Выпуклая<br><br>Узкая, глубокая                                         |

# Средние значения конформационных параметров форм ДНК

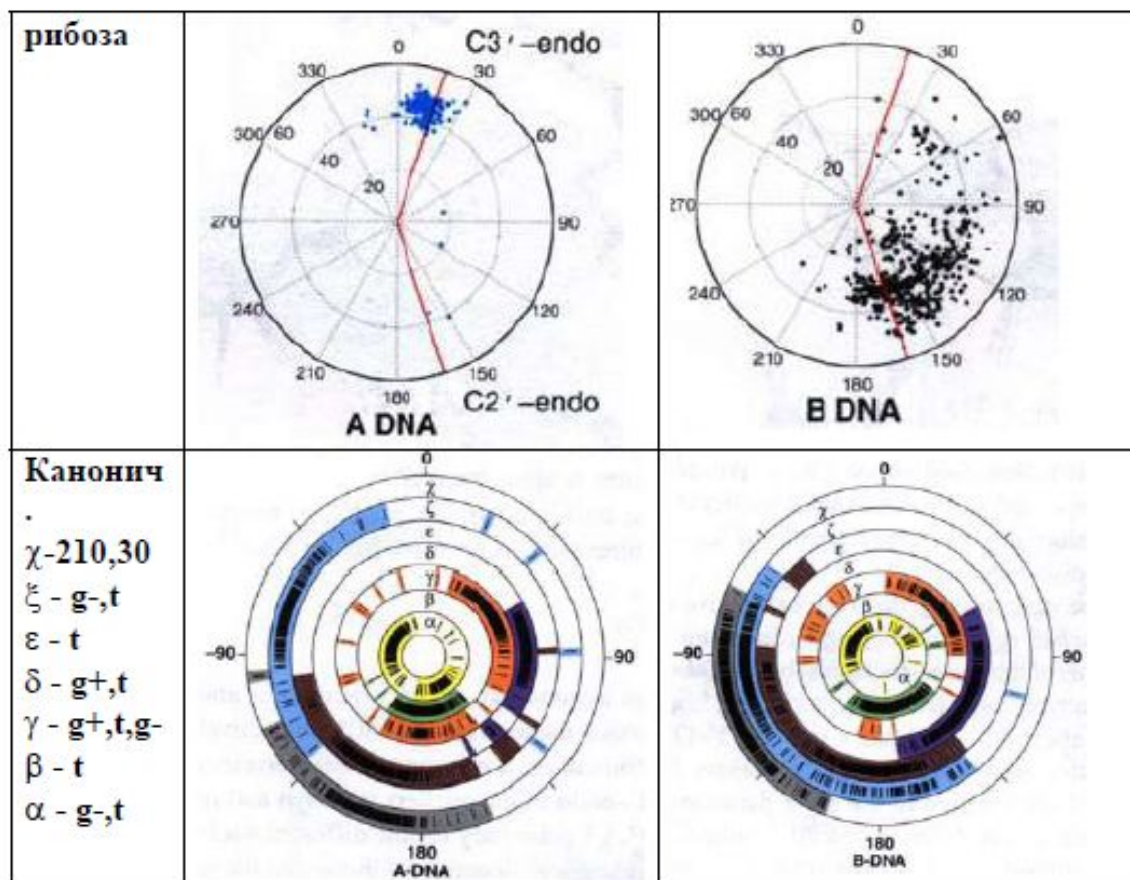
Средние значения конформационных параметров рибозо-фосфатного остова

|          | $\alpha$<br>P-<br>O5' | $\beta$<br>O5'-C5'<br>, | $\gamma$<br>C5'-C4' | $\delta$ P<br>C4'-C3' | $\epsilon$<br>C3'-O3' | $\xi$<br>O3'-P | $\chi$<br>C1'-N |
|----------|-----------------------|-------------------------|---------------------|-----------------------|-----------------------|----------------|-----------------|
| A-DNA    | -62                   | 173                     | 52                  | 88 3                  | 178                   | -50            | -160            |
| B-DNA    | -63                   | 171                     | 54                  | 123<br>131            | 155                   | -90            | -117            |
| Z-DNA(G) | 47                    | 179                     | -165                | 9                     | 256                   | 48             | 68              |
| Z-DNA(C) | -137                  | -139                    | 56                  | 138<br>152            | 266                   | 223            | -159            |

Средние значения спиральных параметров

|              | dx   | dy  | h     | $\vartheta_y$ | $\eta_x$ | $\Omega_z$ | Rph, A | Dpp, A |
|--------------|------|-----|-------|---------------|----------|------------|--------|--------|
| A-DNA        | 4.0  | 0.0 | 2.87  | 0             | 13.5     | 32.2       | 8.8    | 5.6    |
| B-DNA        | 0    | 0   | 3.33  | 0             | 0        | 36.0       | 9.1    | 6.9    |
| Z-DNA<br>(G) | -3.0 | 2.5 | -3.72 | 0             | -7       | -52 G-C    | 8.0    | 4.7    |
| Z-DNA<br>(C) | -3.0 | 2.5 | -3.72 | 0             | -7       | -8 C-G     | 6.9    | 7.1    |

# Конформации нуклеотидов наблюдаемые в кристаллах ДНК дуплексов



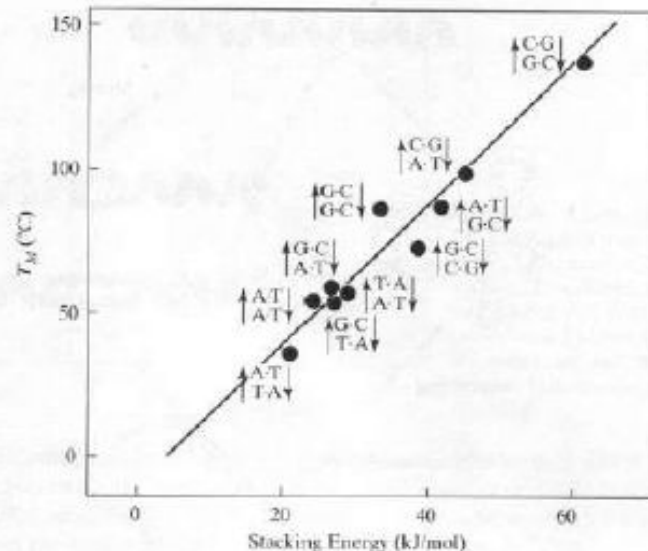
# Зависимость стабильности двойной спирали от контекстного состава

Термодинамическая стабильность GC богатых участков ДНК выше, чем AT богатых.

Термодинамическая стабильность = сумма стопочных и копланарных взаимодействий оснований

Рис. 11-18. Энергия стопочных взаимодействий в 10 типах элементарных динуклеотидных дуплексов

*O. Gotoh et al (1981)*  
*Biopolymers, v.20, p.1033*



# Сверхспирализация ДНК. (Суперскрученность)

Если взяться за концы верёвки и начать скручивать их в разные стороны, она становится короче и на верёвке образуются «супервитки». Так же может быть суперскручена и ДНК. В обычном состоянии цепочка ДНК делает один оборот на каждые 10,4 основания, но в суперскрученном состоянии спираль может быть свёрнута туже или расплетена.

**Сверхспирализация ДНК** — явление пере- или недоскручивания топологически замкнутых цепей ДНК, в результате которого ось двойной спирали ДНК сама закручивается в спираль более высокого порядка. Под «топологически замкнутыми» понимают молекулы, свободное вращение концов которых затруднено (кольцевые молекулы ДНК либо линейные молекулы,

образующиеся в результате сверхспирализации ДНК и иногда

называется *суперскрученной*. Сверхспирализация важна во

множестве биологических процессов, таких как,

например, компактизация ДНК. Определённые ферменты, в

частности топоизомеразы, обладают способностью изменять

топологию ДНК, например для репликации ДНК или транскрипции.

Сверхспирализация описывается математическими выражениями,

которые сравнивают суперскрученную спираль ДНК с её

«расслабленной» формой. Сверхспирализация ДНК может быть

положительной и отрицательной. За положительную

сверхспирализацию принято принимать такую, при которой ось

двойной спирали закручена в том же направлении, что и цепи внутри

двойной спирали (по часовой стрелке). Соответственно,

сверхспирализация считается отрицательной, если ось двойной

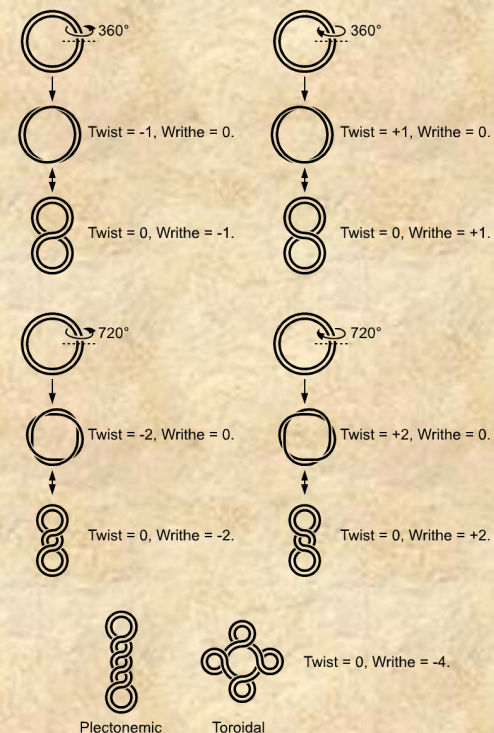
спирали закручена против часовой стрелки. ДНК большинства

мезофильных организмов отрицательно сверхспирализована. В то

же время есть сведения об особой биологической роли

положительной сверхспирализации ДНК как мезофильных, так

и термофильных организмов



Структура  
сверхспирализованных  
молекул ДНК

# Физико-химические свойства ДНК

- ДНК – довольно сильная многоосновная кислота, полностью ионизированная при рН 4,0. Фосфатные группы расположены по периферии. Они прочно связывают ионы Са и Mg , амины, гистоны – положительно заряженные белки. Устойчивость комплементарных пар оснований зависит от величины рН. Пары оснований наиболее устойчивы в интервале рН 4,0–11,0. За его пределами двухцепочечная спираль ДНК теряет устойчивость и раскручивается.
- Молекулярная масса ДНК неодинакова и зависит от источника ее получения. К тому же даже при самых тщательных и щадящих процедурах выделения ДНК подвергается некоторой деградации. Препараты, полученные современными методами из тканей животных и растений, имеют молекулярную массу  $6 \cdot 10^6$  –  $10 \cdot 10^6$  . Однако истинная молекулярная масса ДНК животных и растений, определенная по вязкости и по длине молекул, значительно выше и достигает десятков миллиардов.

# Физико-химические свойства ДНК

- У большинства вирусов ДНК представляет собой двойную спираль, линейную или замкнутую в кольцо. У некоторых вирусов она представляет собой одну полинуклеотидную цепь, замкнутую в кольцо и имеющую сравнительно небольшую молекулярную массу –  $2 \cdot 10^6$ . ДНК сравнительно легко деполимеризуется под действием некоторых химических соединений, ультразвука, ионизирующей и ультрафиолетовой радиации. Нагревание растворов ДНК до температур 70–80°C, а также их подщелачивание вызывают денатурацию ДНК, заключающуюся в плавлении двойной спирали (разрушение водородных связей и гидрофобных взаимодействий), и расхождение полинуклеотидных цепей. Денатурация сопровождается понижением вязкости раствора, повышением поглощения в ультрафиолетовой области, увеличением отрицательного удельного вращения плоскости поляризации света, увеличением плавучей плотности образцов ДНК. Возрастание светопоглощения света при 260 нм называется гипохромным эффектом; это важнейший критерий денатурации ДНК, по которому можно контролировать этот процесс.



Постоянно работаешь над собой?  
Некоторые ошибки не исправить.

[demotivation.ru](http://demotivation.ru)

•Спасибо за внимание!





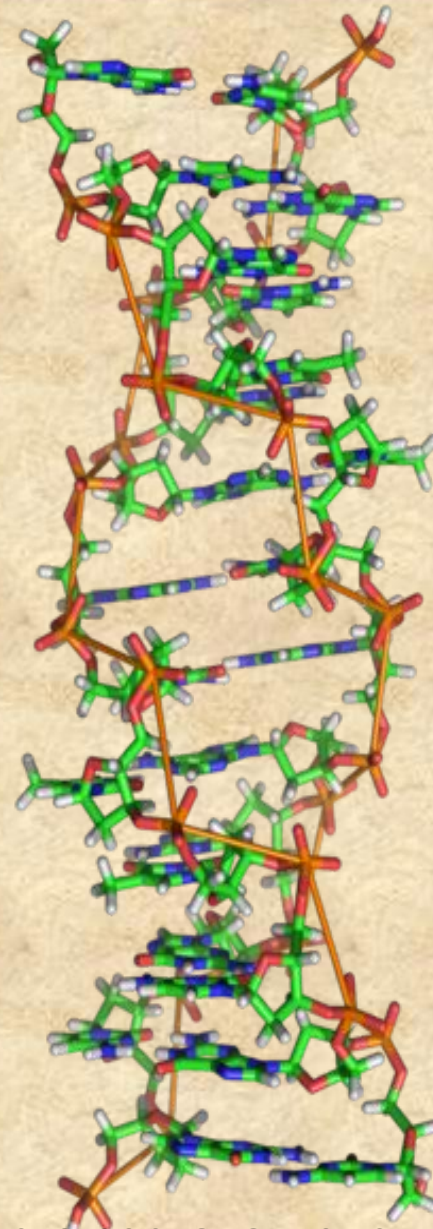
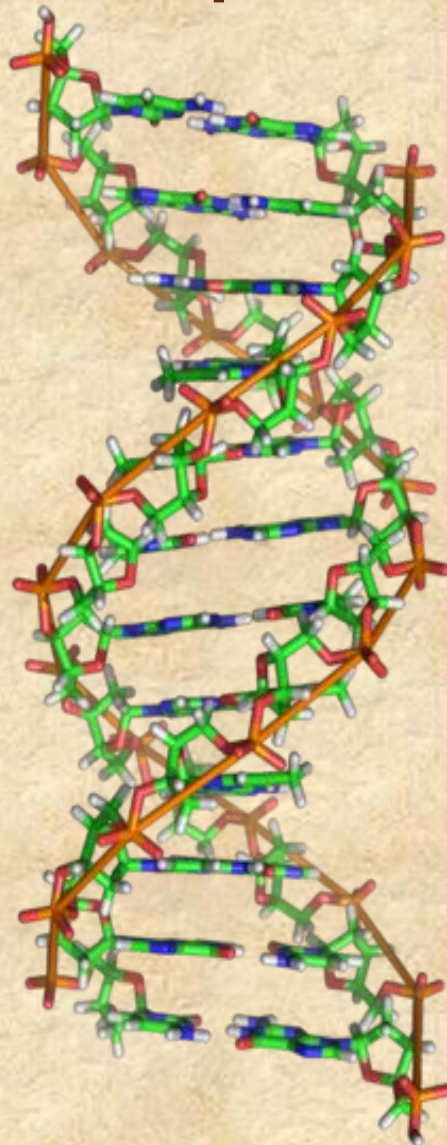
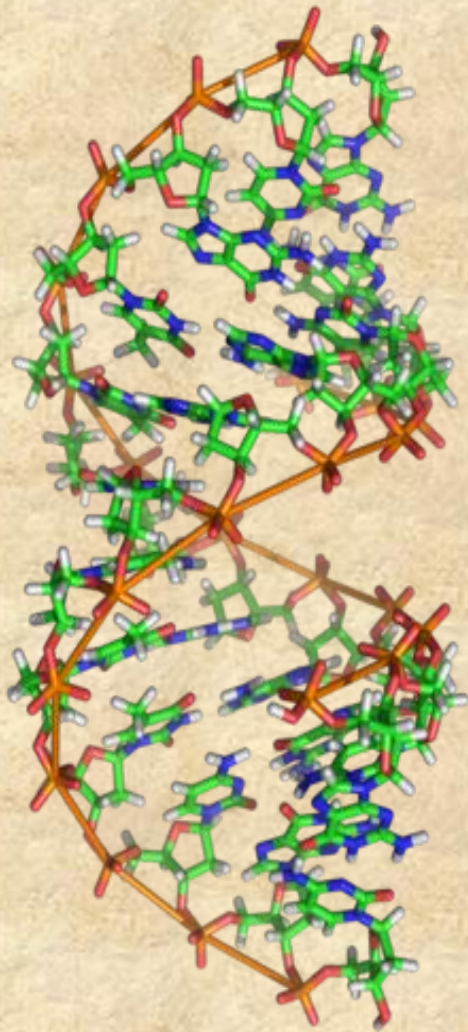






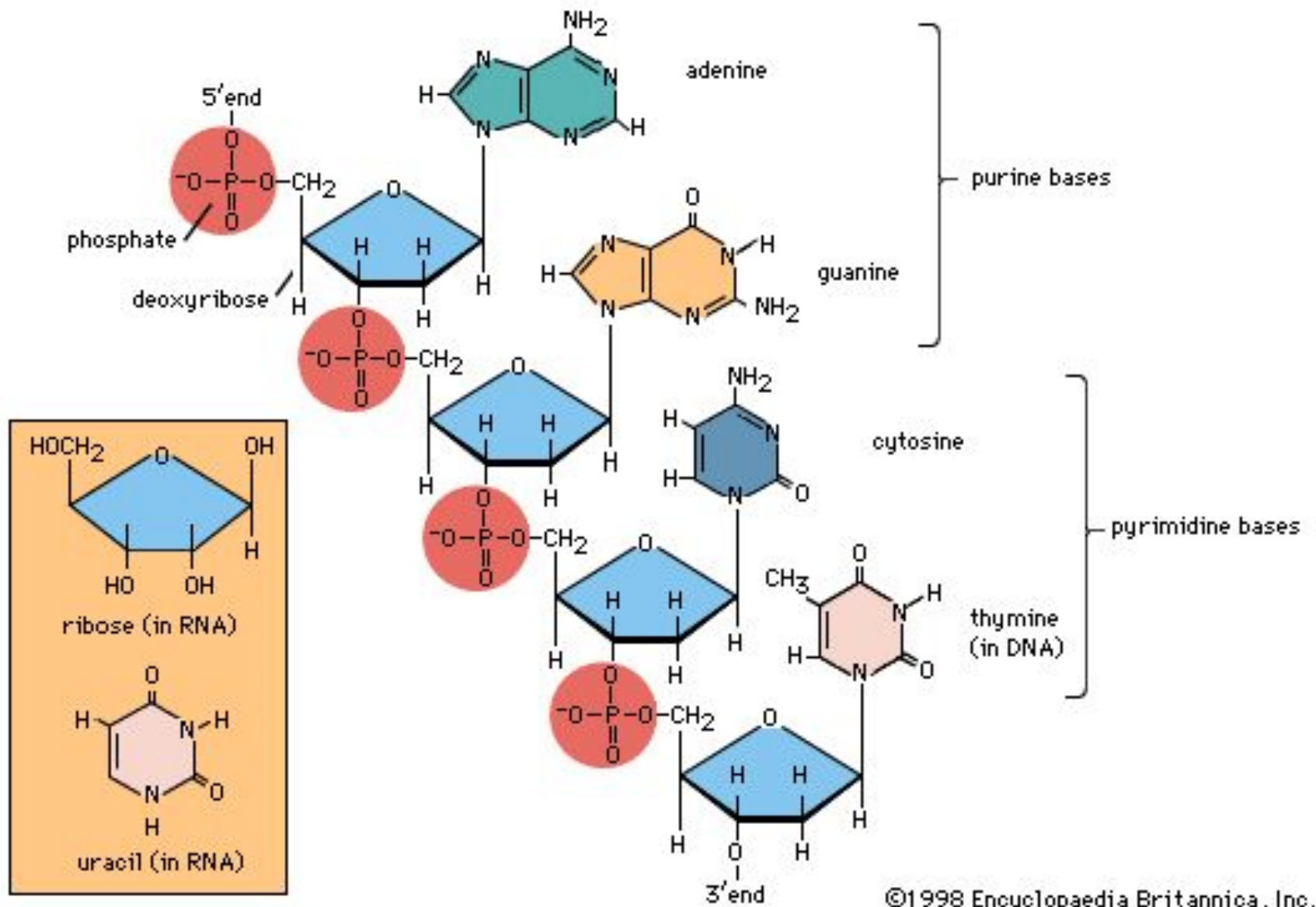


# Двойная спираль



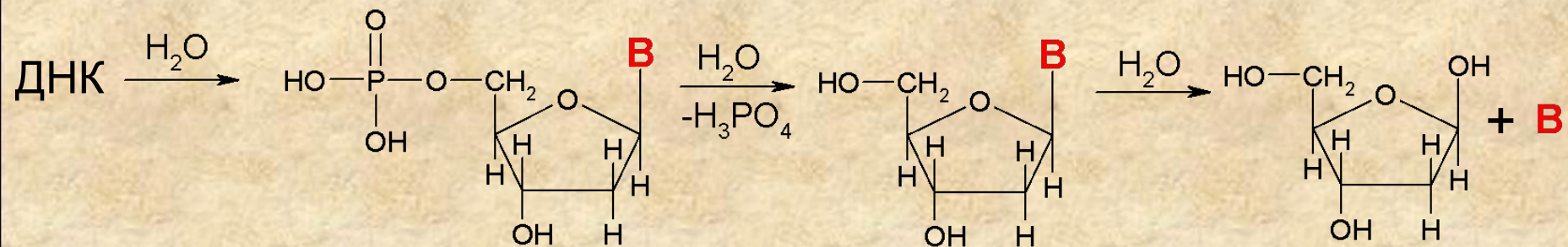
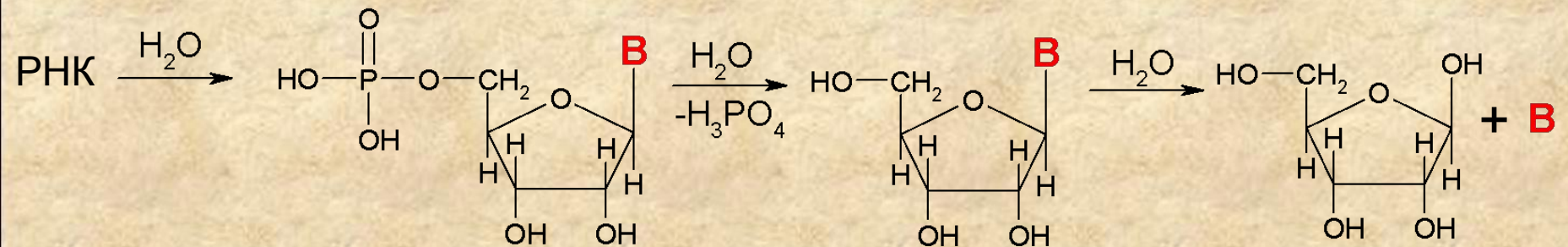
В зависимости от концентрации ионов и нуклеотидного состава молекулы, двойная спираль ДНК в живых организмах существует в разных формах. На рисунке (слева направо) представлены А, В и Z формы

# Нуклеиновые кислоты



# Нуклеиновые кислоты

## Гидролиз



нуклеотиды

нуклеозиды

пентоза

Нукл.  
Осн.