

# **БИОТЕХНОЛОГИЯ**

**Курс лекций для студентов IV курса факультета  
биологии РГПУ им. А.И. Герцена**

**Направление 050100 Педагогическое образование**

**Профиль 01 Биологическое образование**

**Профессор кафедры Зоологии  
проф. Цымбаленко Надежда Васильевна**

**д.б.н.,**

# **СТРУКТУРА И ФУНКЦИИ НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ**

**МОЛЕКУЛЯРНАЯ БИОТЕХНОЛОГИЯ ч. 2**

## ● СТРОЕНИЕ НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ

Хронология открытий, подготовивших создание Уотсоном и Криком модели двойной спирали ДНК

1868г. **Обнаружен нуклеин**. Современное название - **хроматин**.  
Фридрих Мишер

1889г. **Нуклеин разделен на нуклеиновую кислоту и белок**.  
Появился **термин "нуклеиновая кислота"**. Рихард Альтман

1900г. **Все азотистые основания были описаны химиками**.

1909г. **В нуклеиновых кислотах обнаружены фосфорная кислота и рибоза**. Левин

1930г. **Найдена дезоксирибоза**. Левин

1938г. **Рентгеноструктурный анализ показал, что расстояние между нуклеотидами в ДНК 3,4 Å. При этом азотистые основания уложены стопками**. Уильям Астбюри, Флорин Белл

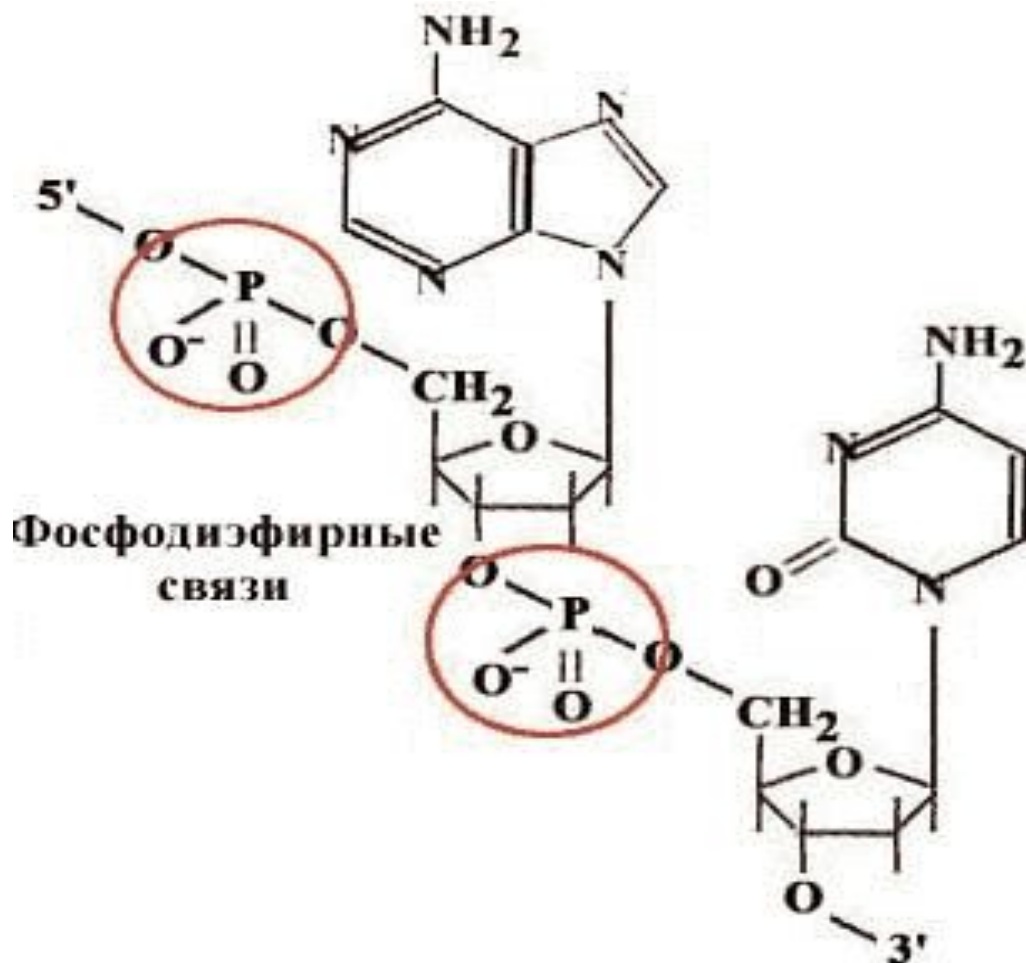
1947г. **С помощью прямого и обратного титрования установлено, что в ДНК есть водородные связи между группами N-H и C=O**. Гулланд

1953г. **С помощью кислотного гидролиза ДНК с последующей хроматографией и количественным анализом установлены закономерности:  $A/T=1$ ;  $G/C=1$ ;  $(G+C)/(A+T)=K$  - коэффициент специфичности, постоянен для каждого вида**. Эрвин Чаргафф

- **Нуклеиновые кислоты являются нерегулярными полимерами, мономеры которых - нуклеотиды.**
- **Нуклеотид = нуклеозид + фосфорная кислота = азотистое основание+ пентоза+фосфорная кислота.**
- **В РНК пентоза - **рибоза**. В ДНК - **дезоксирибоза**.**



- Нуклеотиды соединяются друг с другом в полимерную цепочку с помощью **фосфодиэфирных связей**. Азотистые основания не принимают участия в соединении нуклеотидов одной цепи.



- Существует два класса азотистых оснований.
- **Пурины**: аденин (А) и гуанин (Г) - содержат два гетероцикла.



- **Пиримидины**: тимин (Т), цитозин (Ц) и урацил (У) - содержат один гетероцикл.



# • Принципы строения ДНК

## • 1. *Нерегулярность.*

Существует регулярный сахарофосфатный остов, к которому присоединены азотистые основания. Их чередование нерегулярно.

## • 2. *Антипараллельность.*

ДНК состоит из двух полинуклеотидных цепей, ориентированных антипараллельно. 3`-конец одной расположен напротив 5`-конца другой.

## • 3. *Комплементарность (дополнительность).*

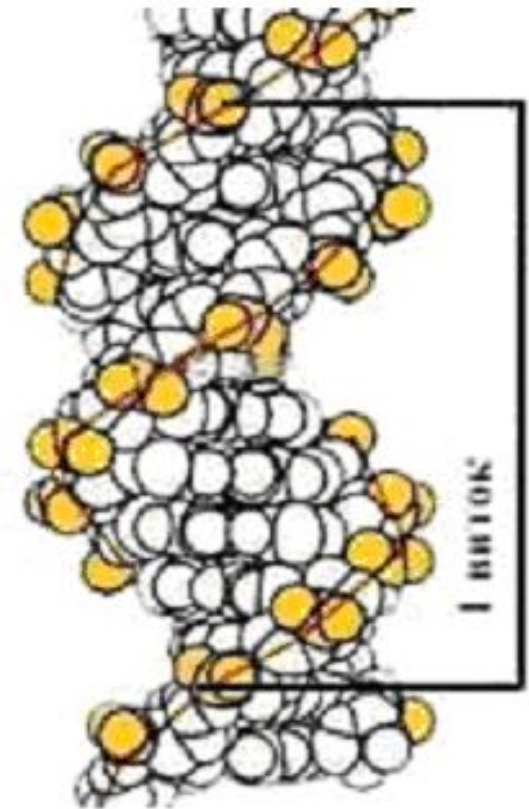
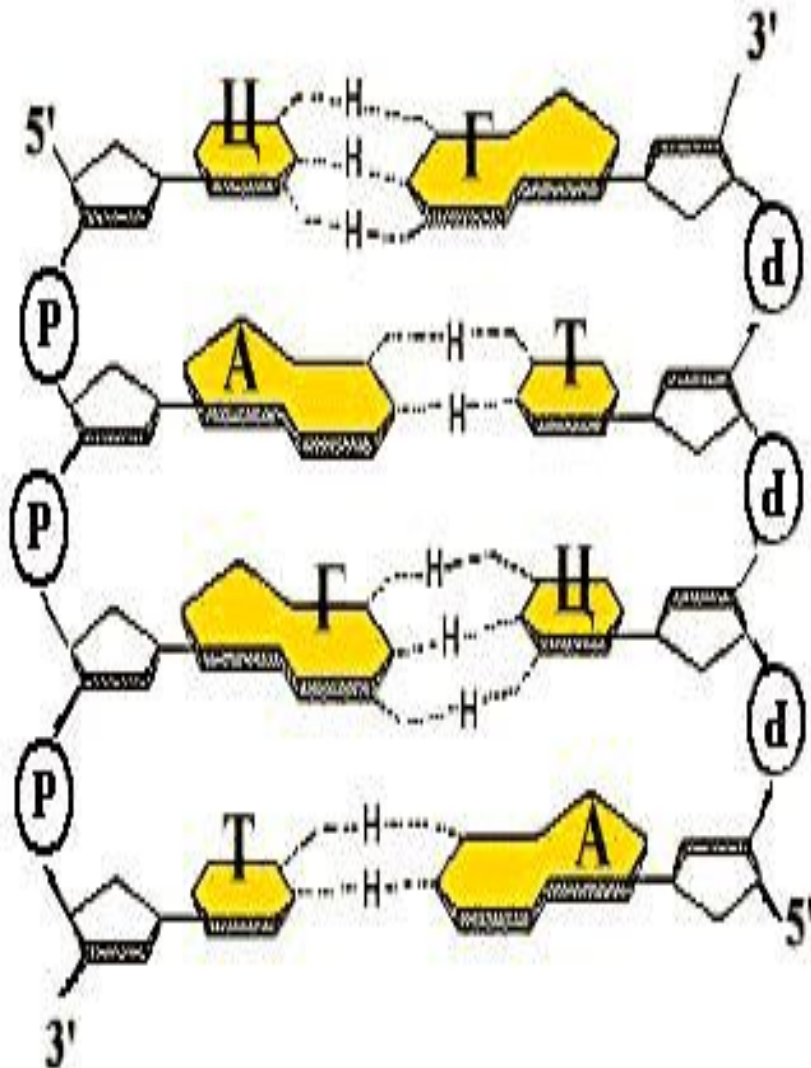
Каждому азотистому основанию одной цепи соответствует строго определенное азотистое основание другой цепи. Соответствие задается химией. Пури́н и пиримидин в паре образуют водородные связи. В паре А-Т две водородные связи, в паре Г-Ц - три.

## • 4. *Наличие регулярной вторичной структуры.*

Две комплементарные, антипараллельно расположенные полинуклеотидные цепи образуют правые спирали с общей осью.

## Принципы строения ДНК

- Нерегулярность, антипараллельность, комплементарность, наличие регулярной вторичной структуры



В - форма  
двойной спирали  
ДНК



## • **ФУНКЦИИ ДНК**

- **1. ДНК является носителем генетической информации.**  
Функция обеспечивается фактом существования **генетического кода.**
- **2. Воспроизведение и передача генетической информации в поколениях клеток и организмов.**  
Функция обеспечивается процессом **репликации.**
- **3. Реализация генетической информации в виде белков, а также любых других соединений, образующихся с помощью белков-ферментов.**  
Функция обеспечивается процессами **транскрипции** и **трансляции.**

## **РЕПЛИКАЦИЯ ДНК**

**Процесс, осуществляемый комплексом ферментов и белков, выполняющих топологическую функцию, суть которого в образовании идентичных копий ДНК для передачи генетической информации в поколениях клеток и организмов, называют *репликацией ДНК*.**

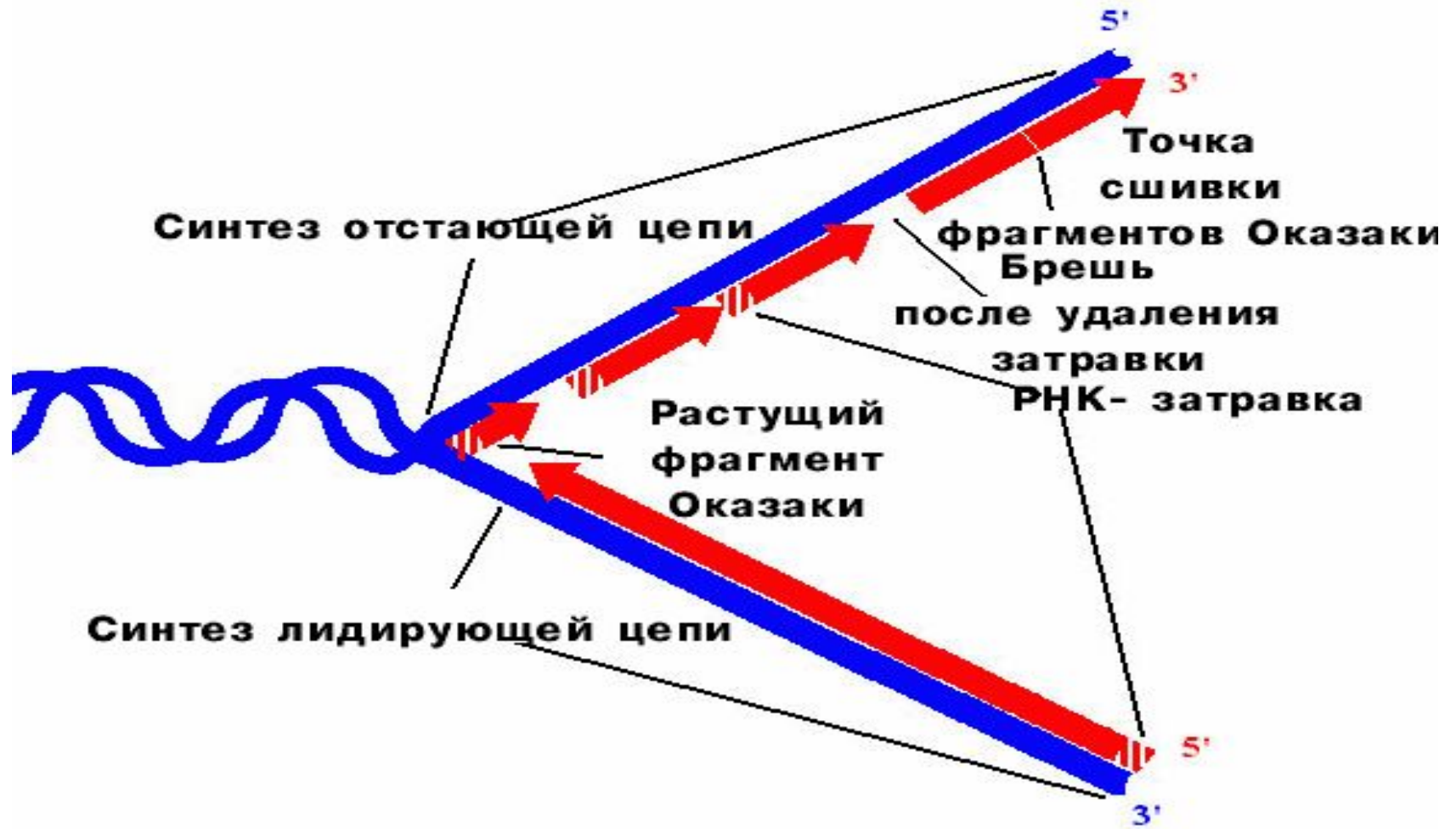
- **Принципы репликации**
- **1. *Комплементарность.***
- **2. *Антипараллельность.***
- **3. *Униполярность.***
- **4. *Потребность в затравке.***
- **5. *Прерывистость.***
- **6. *Полуконсервативность.***

- 
- **Синтез каждой дочерней цепи ДНК идет комплементарно и антипараллельно матричной цепи и всегда в направлении  $5' \rightarrow 3'$ .**
- **Полуконсервативность** означает, что каждая дочерняя ДНК состоит из одной матричной (материнской) цепи и одной вновь синтезированной.

## Полуконсервативный механизм



- Синтез одной нити ДНК идет короткими фрагментами, которые сшиваются с помощью ДНК-лигазы. У бактерий и высших организмов **одна цепь образуется непрерывно, а другая - прерывисто (лидирующая и запаздывающая цепи).**



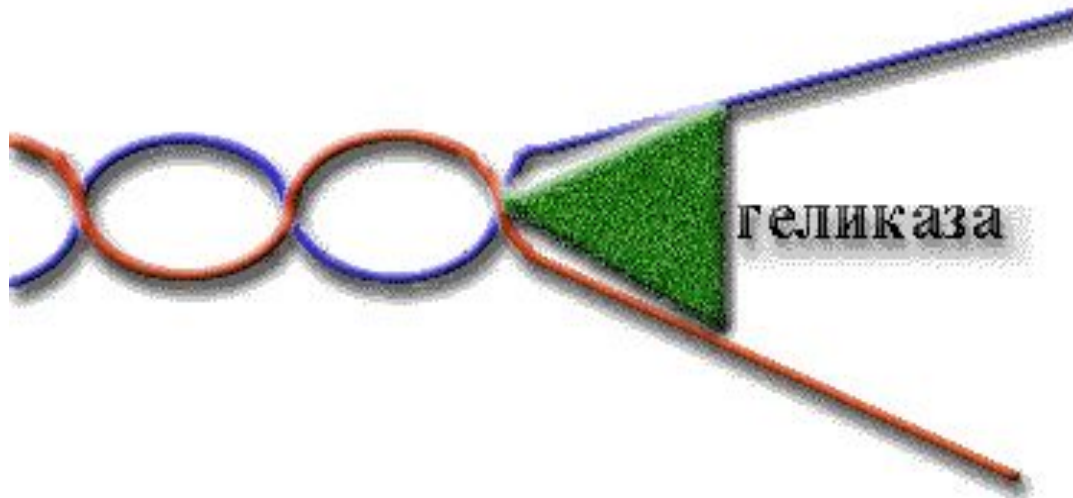
- **ФЕРМЕНТЫ РЕПЛИКАЦИИ**
- **ДНК-полимеразы**
- Эти ферменты присутствуют во всех прокариотических и эукариотических клетках.
- Сравнительные характеристики ДНК-полимераз E. Coli

<u>Функция</u>	ДНК- полимераза I	ДНК- полимераза II	ДНК - полимераза III
Полимеризация $5' \rightarrow 3'$	+	+	+
Гидролитическая активность $3' \rightarrow 5'$	+	+	+
Гидролитическая активность $5' \rightarrow 3'$	+	-	-

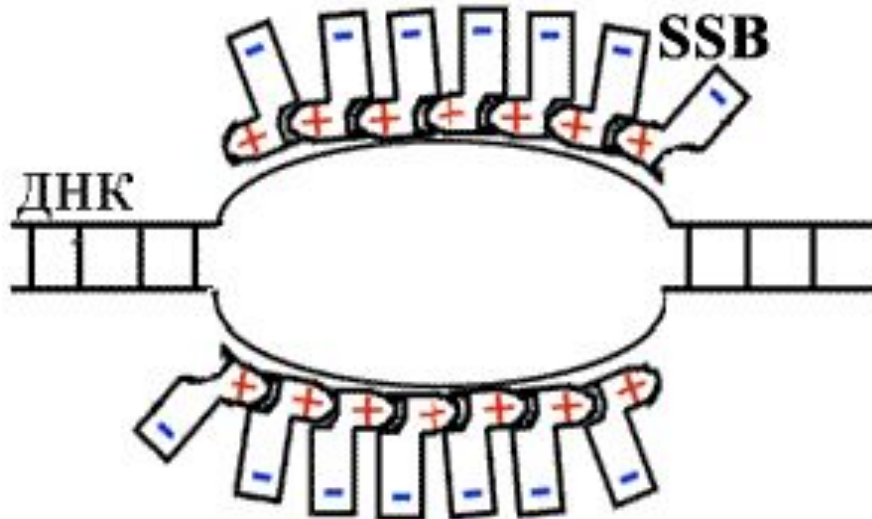
- 
- К **репликации** имеют отношение **полимераза I и III**.
- Причем *именно полимераза III является репликазой, т.е. она синтезирует in vivo новые цепи ДНК.*
- Участие ДНК-полимеразы I необходимо. У нее вспомогательная, репаративная функция.
- ДНК-полимераза II имеет отношение лишь к репарации

## Геликазы

- *Геликазы* - ферменты, денатурирующие ДНК.
- Для начала “работы” геликазы требуется одноцепочечный участок ДНК, т.е. геликаза не может начать плавление нативной ДНК без дефектов



- 
- **SSB (single strand bind)**
- *Они не денатурируют ДНК, а лишь фиксируют одноцепочечное состояние.*
- *У них повышенное сродство к одноцепочечной ДНК. Белок не связывается с двуцепочечной ДНК, не имеющей расплавленных участков.*
- Белки связываются с двуцепочечной ДНК, если в ней есть нарушения вторичной структуры.



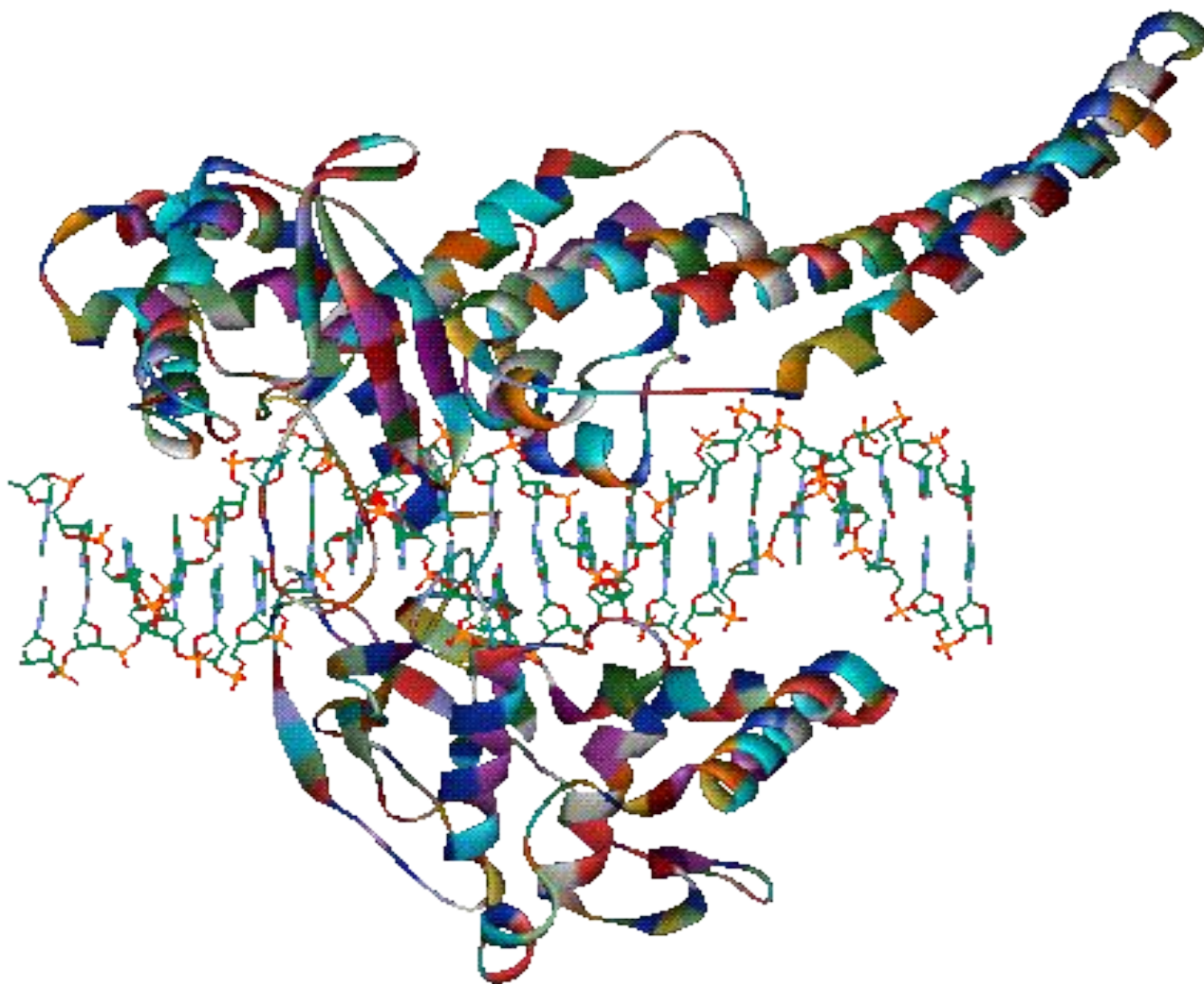
и избирательно  
стимулируют  
ДНК-полимеразы



# • **Топоизомеразы**

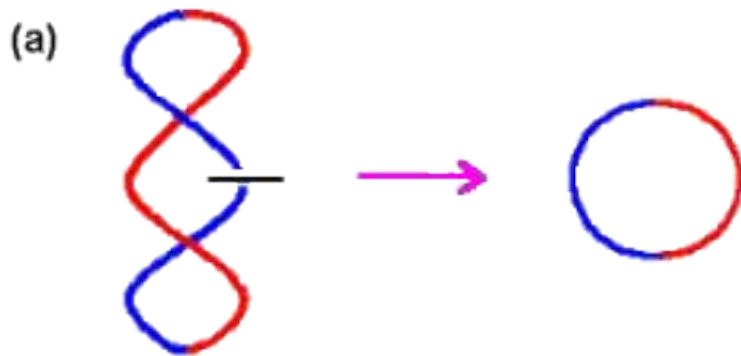
- *Топоизомеразы - ферменты, изменяющие топологию ДНК, т.е. катализирующие переходы в молекулах ДНК, связанные с изменением степени сверхспирализации..*
- **Топоизомеразы меняют число зацеплений одной цепи за другую. Делятся на два класса:**
- **Тип I (релаксазы) - уменьшают число зацеплений.**
- **Тип II (гиразы) - увеличивают число зацеплений**

- **Комплекс топоизомеразы и ДНК**

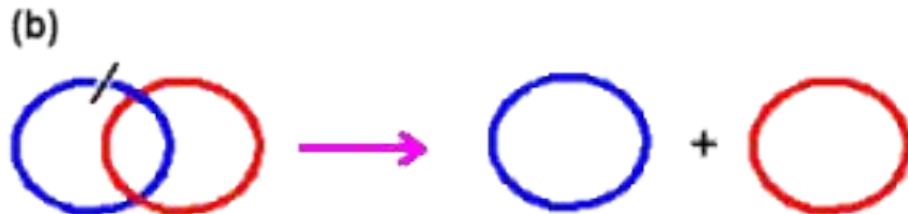


- **Механизм действия топоизомеразы**

- В процессе репликации расплетание цепей ДНК может приводить к образованию особых структур: **суперскрученных (supercoils)** и **катенанов (catenanes)**. Топоизомеразы препятствуют их образованию путем осуществления **однонитевых разрывов**, которые потом сшиваются лигазами



а) удаление суперспирализации



б) удаление структуры катенана

- 
- **РНК-праймаза**

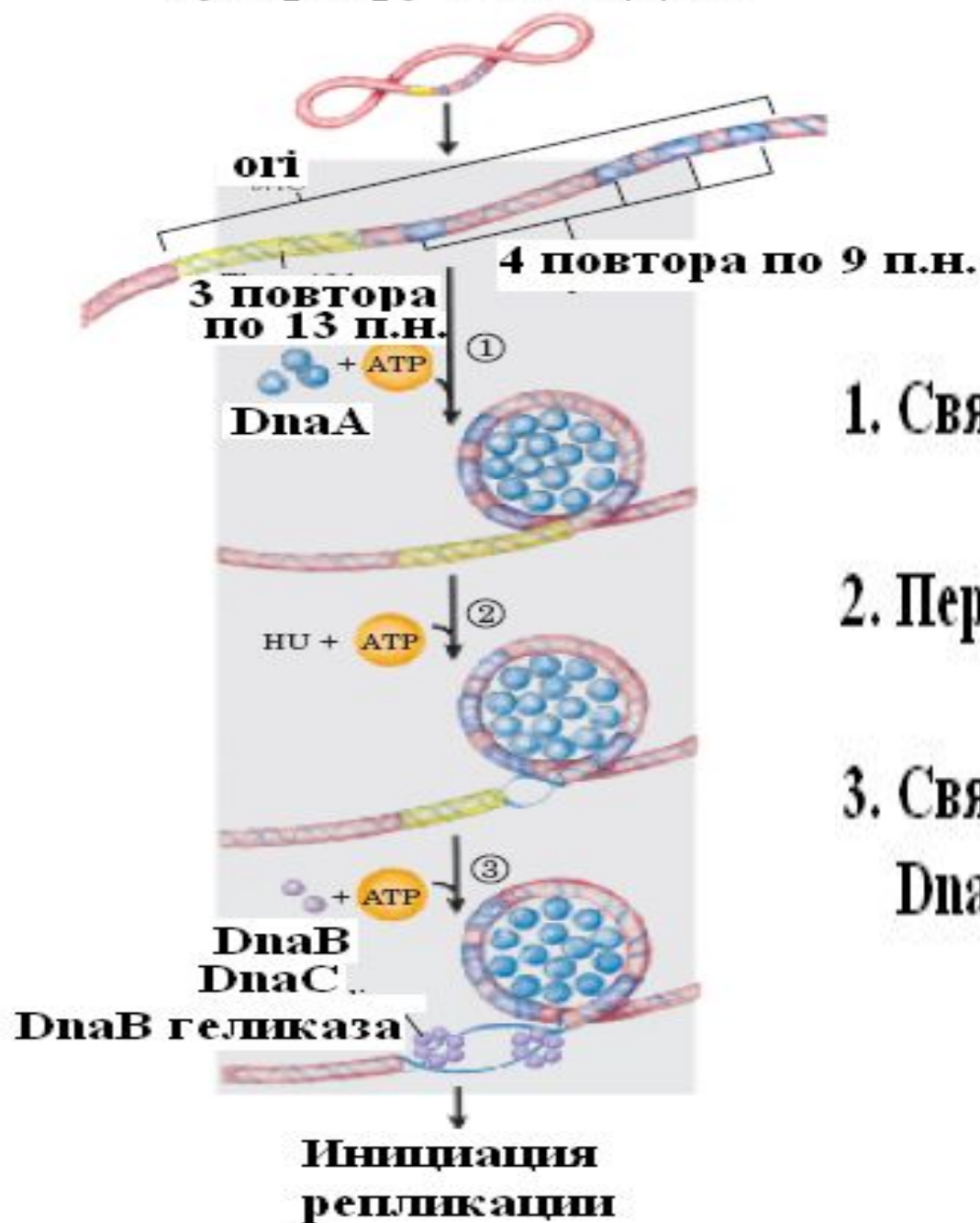
- *Синтезирует РНК-затравки для синтеза дочерних нитей ДНК*

- **ДНК - лигазы**

- *Необходимы для соединения цепей ДНК при репликации, репарации и рекомбинации*

- **ИНИЦИАЦИЯ РЕПЛИКАЦИИ У E.coli**
- *Белок-инициатор DnaA* играет ключевую роль в инициации репликации хромосомы у многих бактерий. Он последовательно выполняет 3 главные функции:
- Узнает область начала репликации **ori**, последовательно связываясь с наномерными повторами в ДНК
- Способствует расплетанию легкоплавких АТ-богатых участков ДНК **ori**
- Создает условия для привлечения ДНК-геликазы **DnaB** на расплетенные участки **ori**

# Суперскрученная ДНК

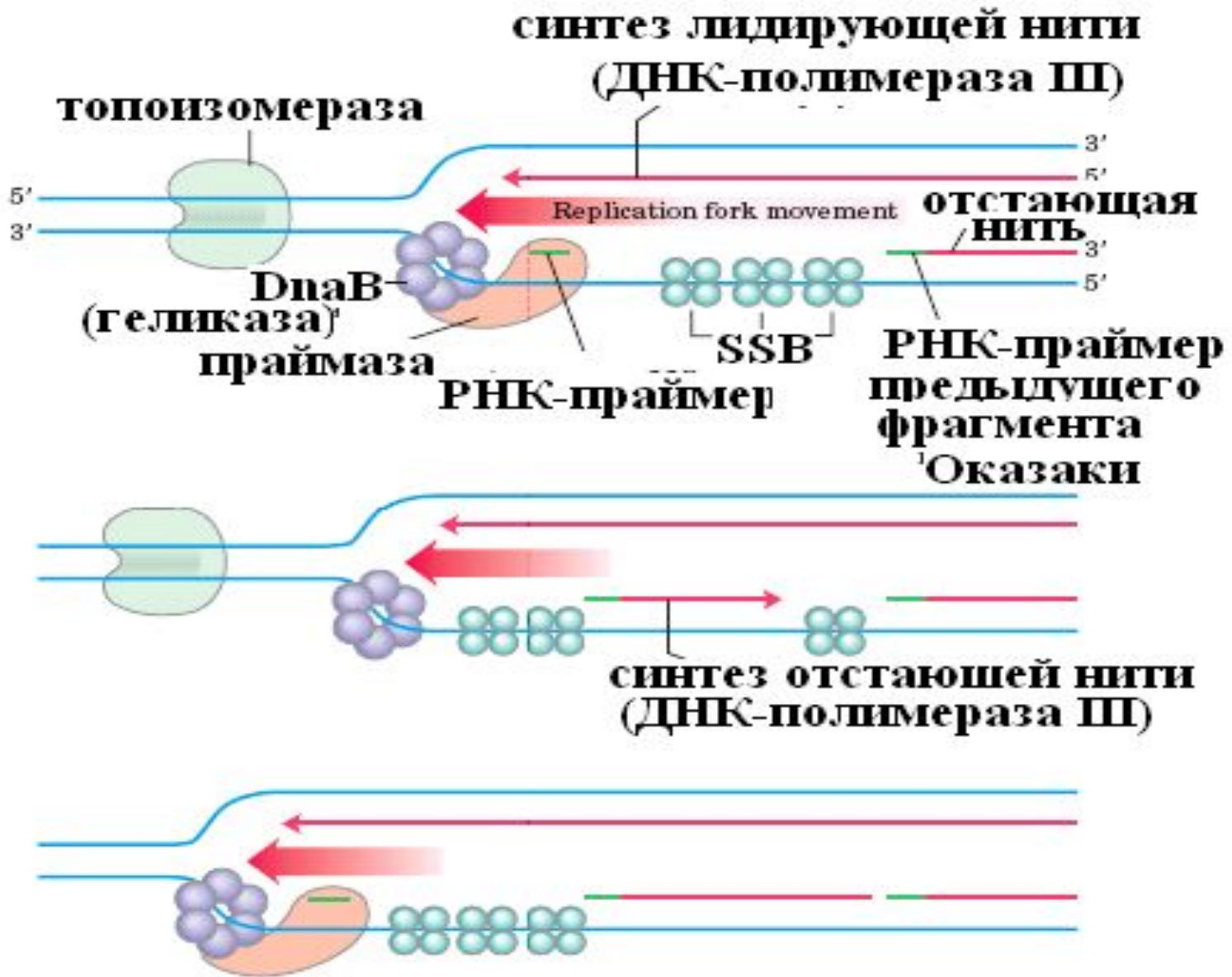


1. Связывание DnaA с ori

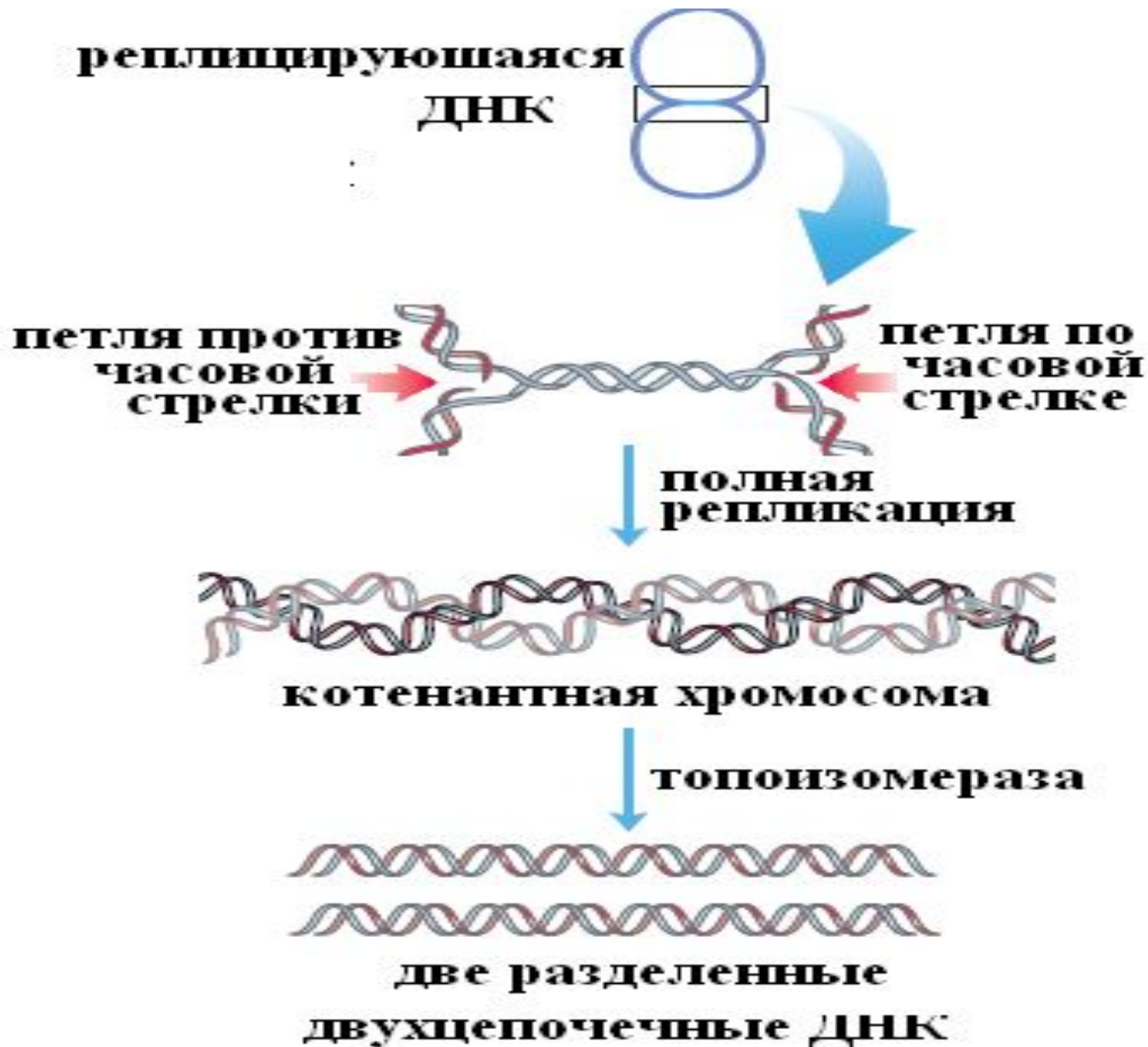
2. Первичная денатурация ДНК

3. Связывание геликазы DnaB и DnaC - начало репликации

- Элонгация обеих нитей синтезирующейся ДНК

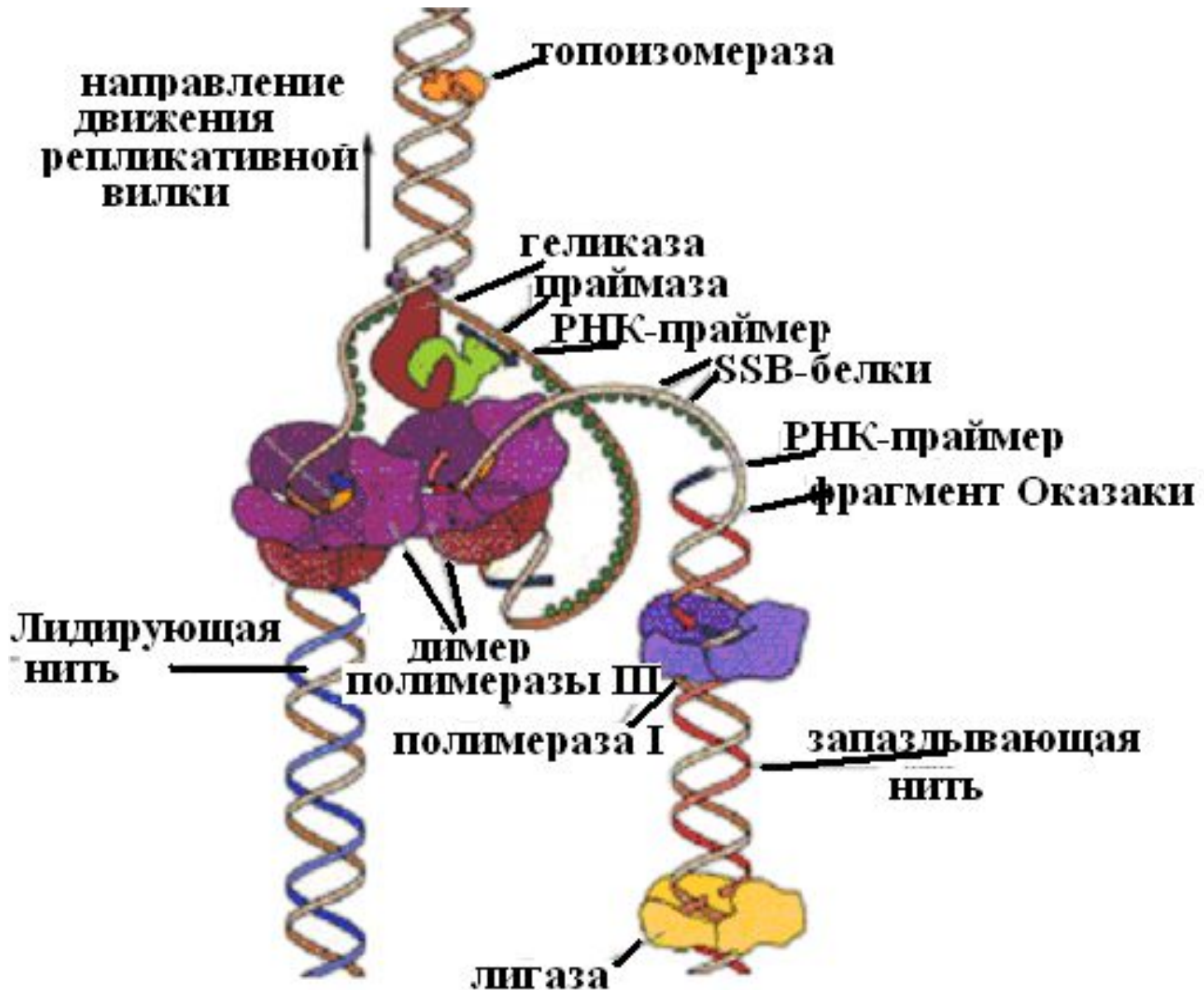


- **Терминация репликации**

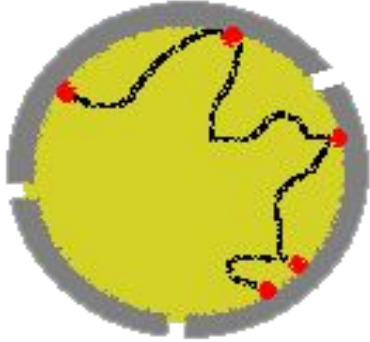




- **Модель репликации ДНК E.coli**

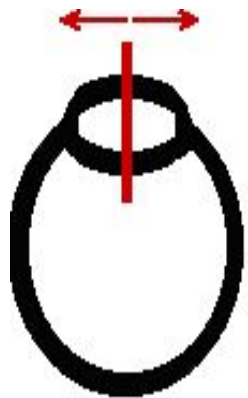


- Особенности репликации ДНК эукариот

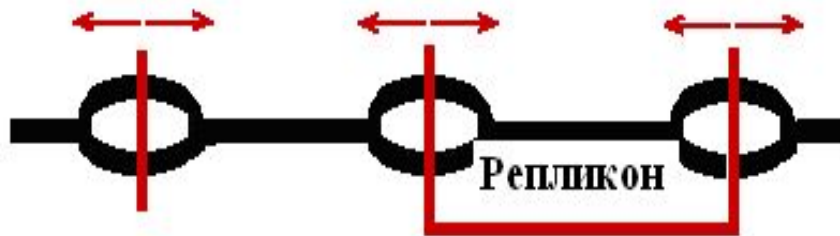


У эукариот ДНК закрепляется белками в нескольких местах на ядерной мембране. На каждом отдельном участке работает **топоизомераза**. Сколько участков, столько и *ori*.

- Каждая эукариотическая хромосома - полирепликон.



E.coli

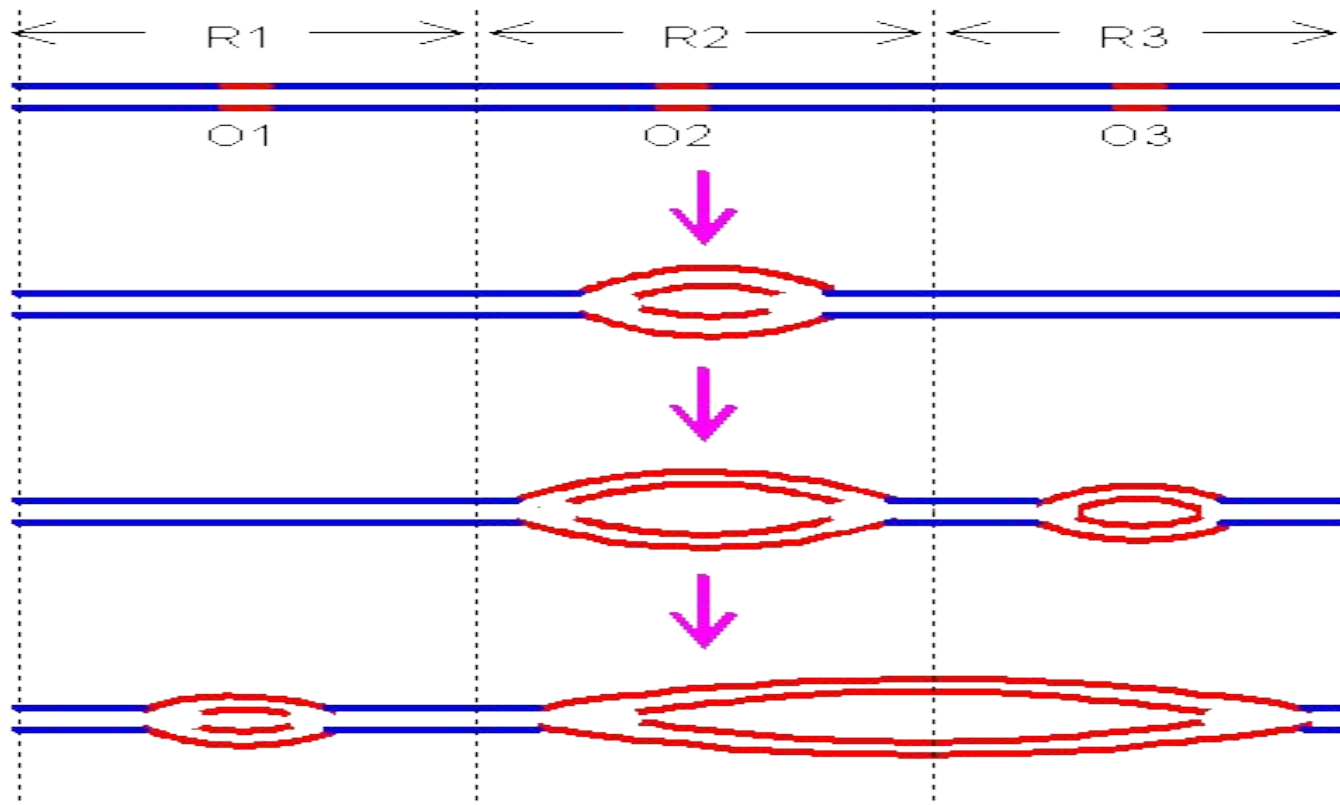


Эукариоты

**репликон - участок ДНК  
между двумя *ori***

<b>Организм</b>	<b>Количество репликонов</b>	<b>Средний размер репликона, тыс.п.н.</b>	<b>Скорость движения репликативной вилки п.н./мин.</b>
<b>E.coli</b>	<b>1</b>	<b>4200</b>	<b>50000</b>
<b>Дрожжи</b>	<b>500</b>	<b>40</b>	<b>3600</b>
<b>Дрозофила</b>	<b>3500</b>	<b>40</b>	<b>2600</b>
<b>Ксенопус (лягушка)</b>	<b>15000</b>	<b>200</b>	<b>500</b>
<b>Мышь</b>	<b>25000</b>	<b>150</b>	<b>2200</b>
<b>Бобы</b>	<b>35000</b>	<b>300</b>	<b>2200</b>

- **Схема репликации ДНК**
- **Расплетенные нити ДНК представляют собой “петлю”, растущую в одном направлении. Репликативный участок называют “репликативным пузырьком”.**



# • Репликация концов ДНК хромосомом эукариот

- 3'-оверхенги, т.е. выступающие 3'-концы материнских цепей узнаются **теломеразой** - ферментом, содержащим помимо белковой части еще и РНК, выполняющую роль матрицы для наращивания ДНК повторами. Теломераза вначале удлиняет более длинную цепь. Затем синтезируется удлиненная короткая цепь.



"материнская"  
цепь ДНК  
"дочерняя"  
цепь ДНК

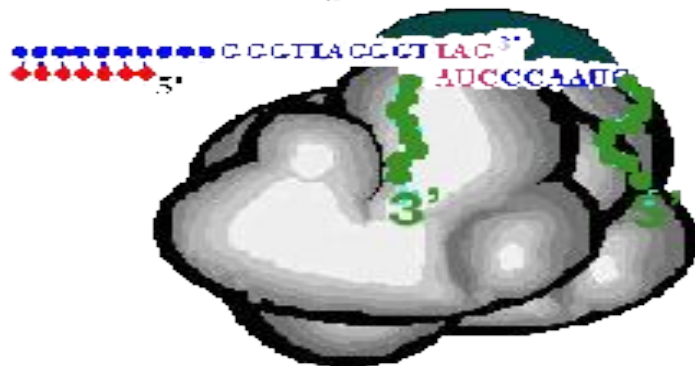


Теломеразная  
РНК

↓ Элонгация



↓ Транслокация



# • Белки и ферменты репликации

<b>наименование</b>	<b>выполняемая функция</b>	<b>этап репликации</b>

## • Таблица матричных синтезов

	Репликация	Транскрипция	Трансляция
Субстрат			
Источник энергии			
Ферменты			
Кофакторы			
Направление синтеза новой цепи			
Локализация процесса			
Характеристика продукта			