

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

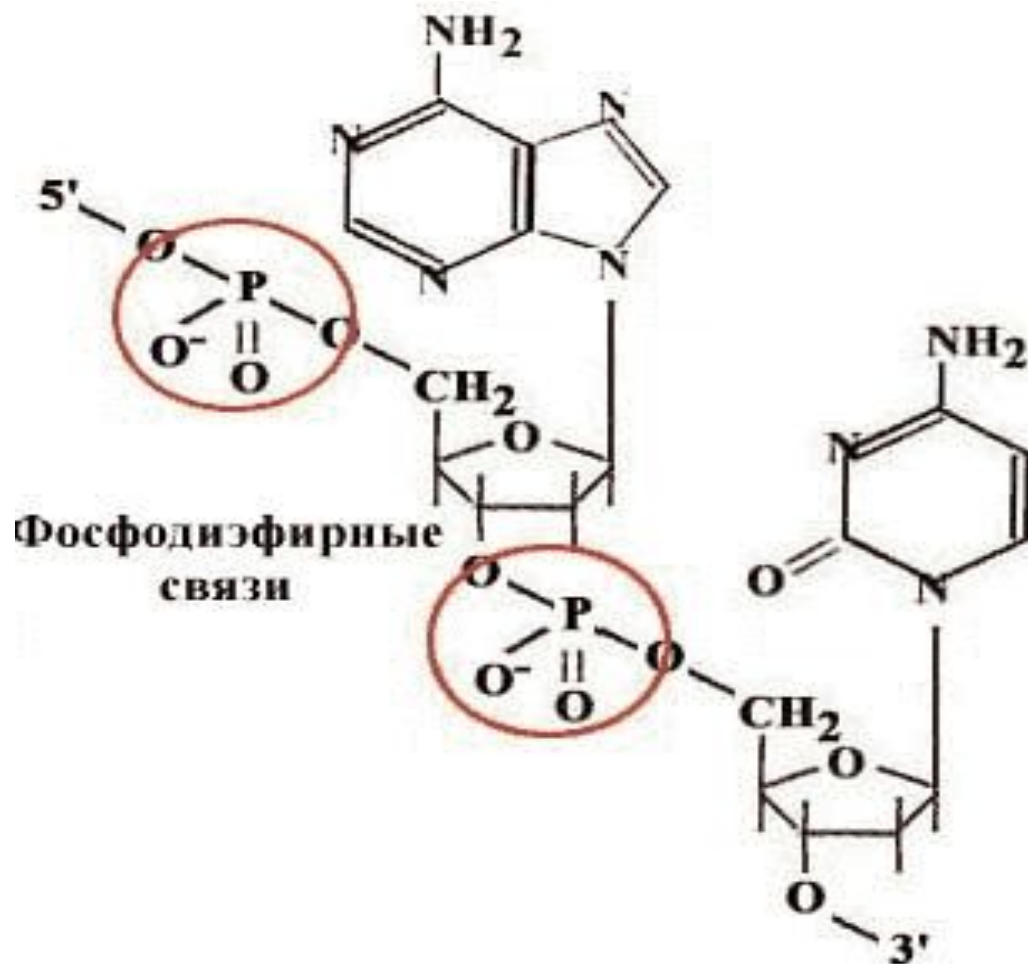
1947г. **С помощью прямого и обратного титрования установлено, что в ДНК есть водородные связи между группами N-H и C=O**. Гулланд

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).*

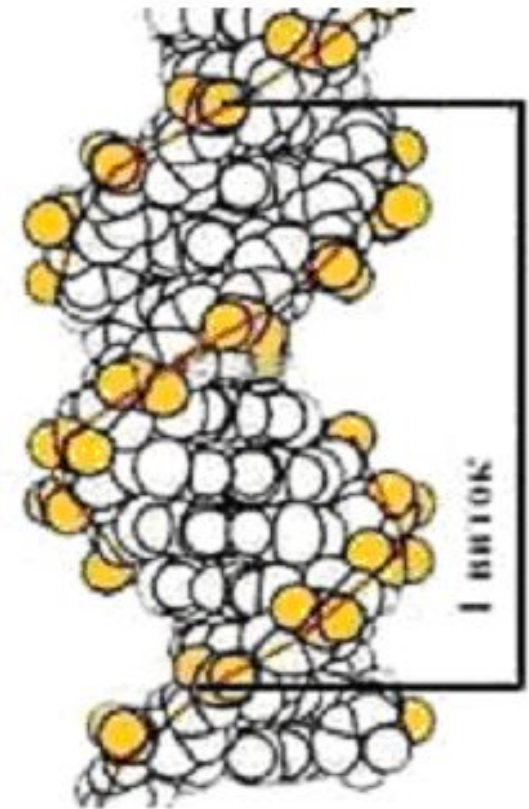
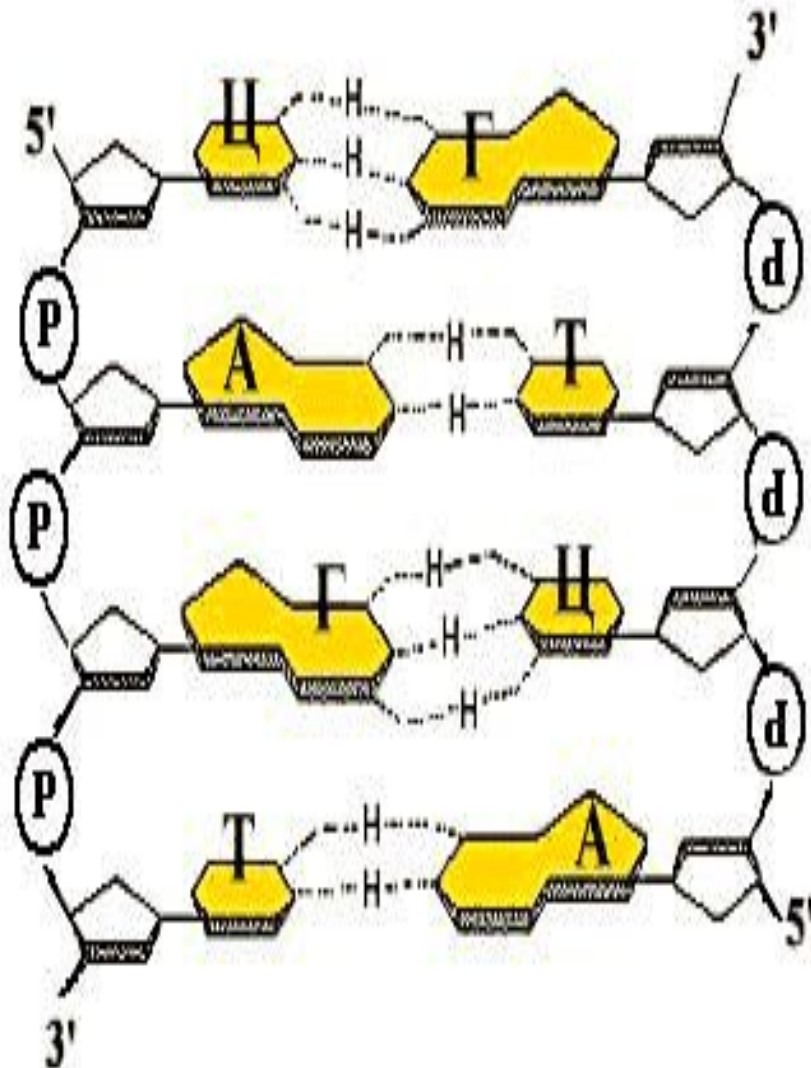
Каждому азотистому основанию одной цепи соответствует строго определенное азотистое основание другой цепи. Соответствие задается химией. Пурин и пиримидин в паре образуют водородные связи. В паре А-Т две водородные связи, в паре Г-Ц - три.

• 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.**

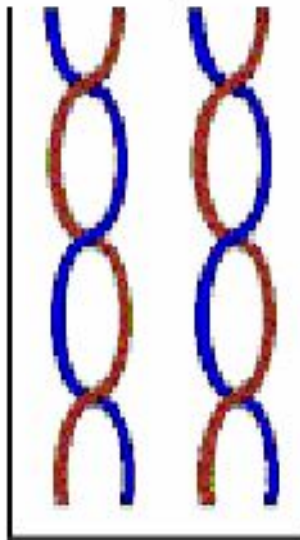
РЕПЛИКАЦИЯ ДНК


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



 Материнская цепь

 Дочерняя цепь

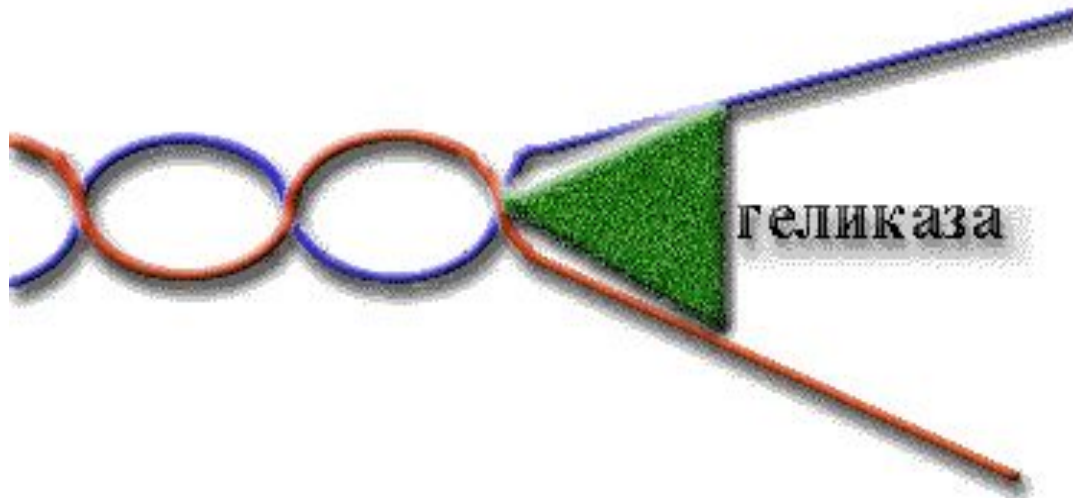
- **ФЕРМЕНТЫ РЕПЛИКАЦИИ**
- **ДНК-полимеразы**
- Эти ферменты присутствуют во всех прокариотических и эукариотических клетках.
- Сравнительные характеристики ДНК-полимераз E. Coli

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

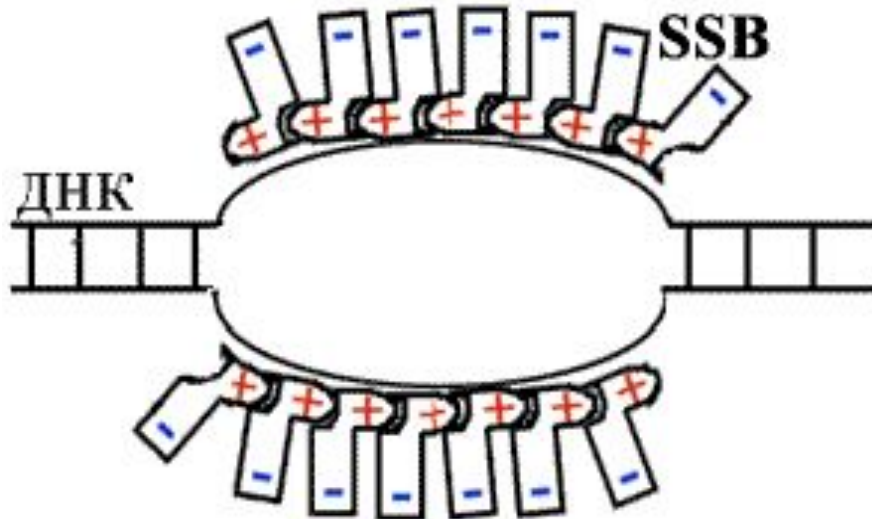
-
- К **репликации** имеют отношение **полимераза I и III**.
- Причем *именно полимераза III является репликазой, т.е. она синтезирует in vivo новые цепи ДНК.*
- Участие ДНК-полимеразы I необходимо. У нее вспомогательная, репаративная функция.
- ДНК-полимераза II имеет отношение лишь к репарации

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.

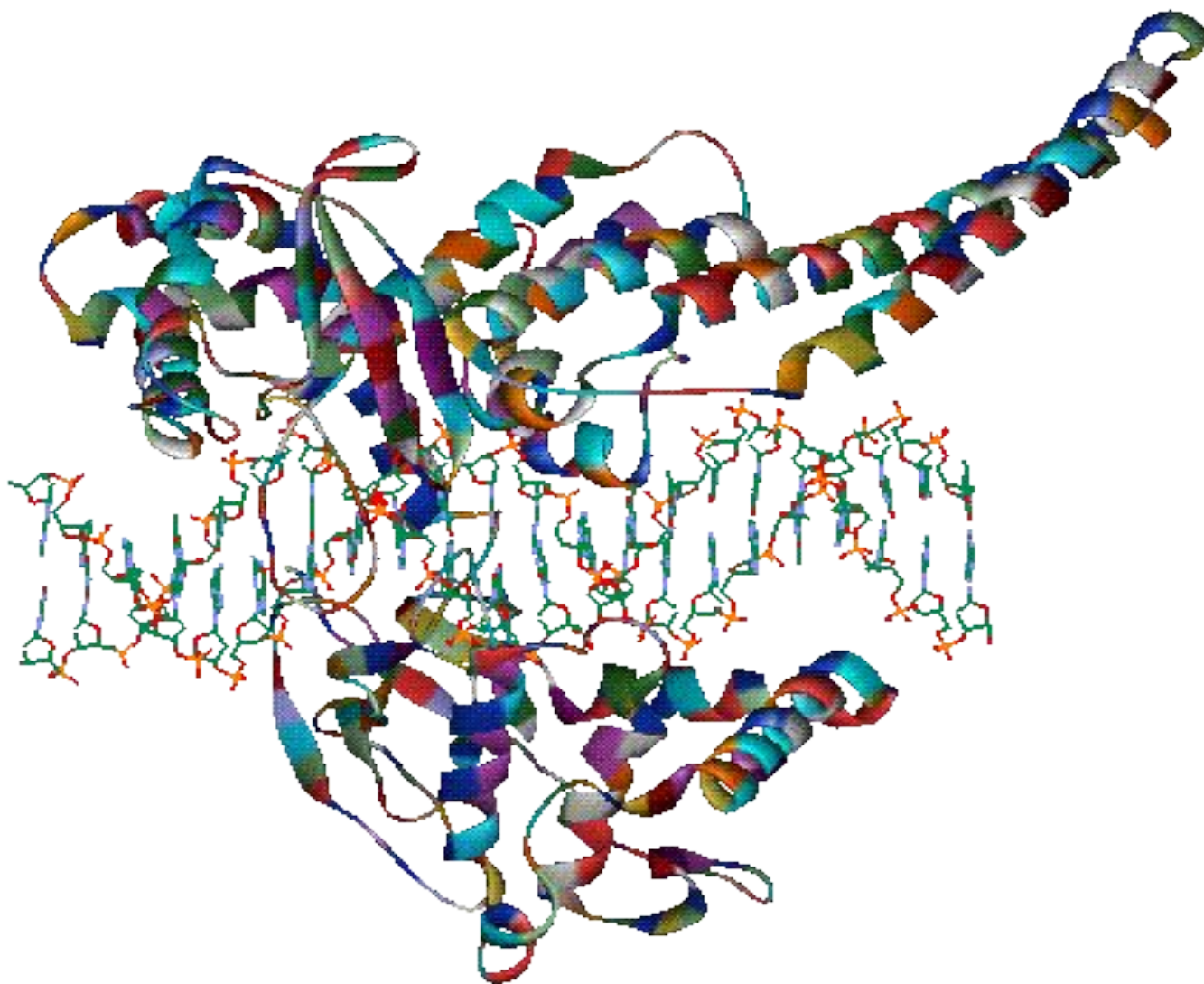


и избирательно
стимулируют
ДНК-полимеразы

• **Топоизомеразы**

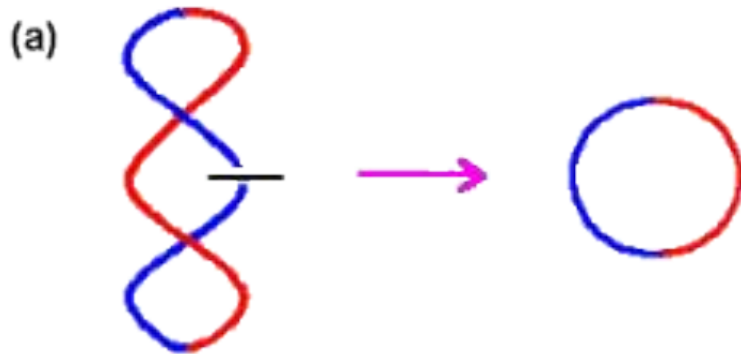
- *Топоизомеразы - ферменты, изменяющие топологию ДНК, т.е. катализирующие переходы в молекулах ДНК, связанные с изменением степени сверхспирализации..*
- **Топоизомеразы меняют число зацеплений одной цепи за другую. Делятся на два класса:**
- **Тип I (релаксазы) - уменьшают число зацеплений.**
- **Тип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

- **Комплекс топоизомеразы и ДНК**

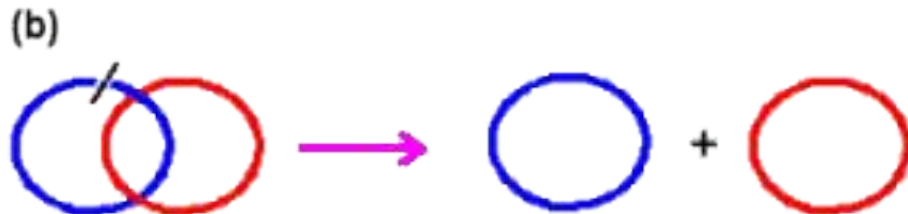


- **Механизм действия топоизомеразы**

- 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**

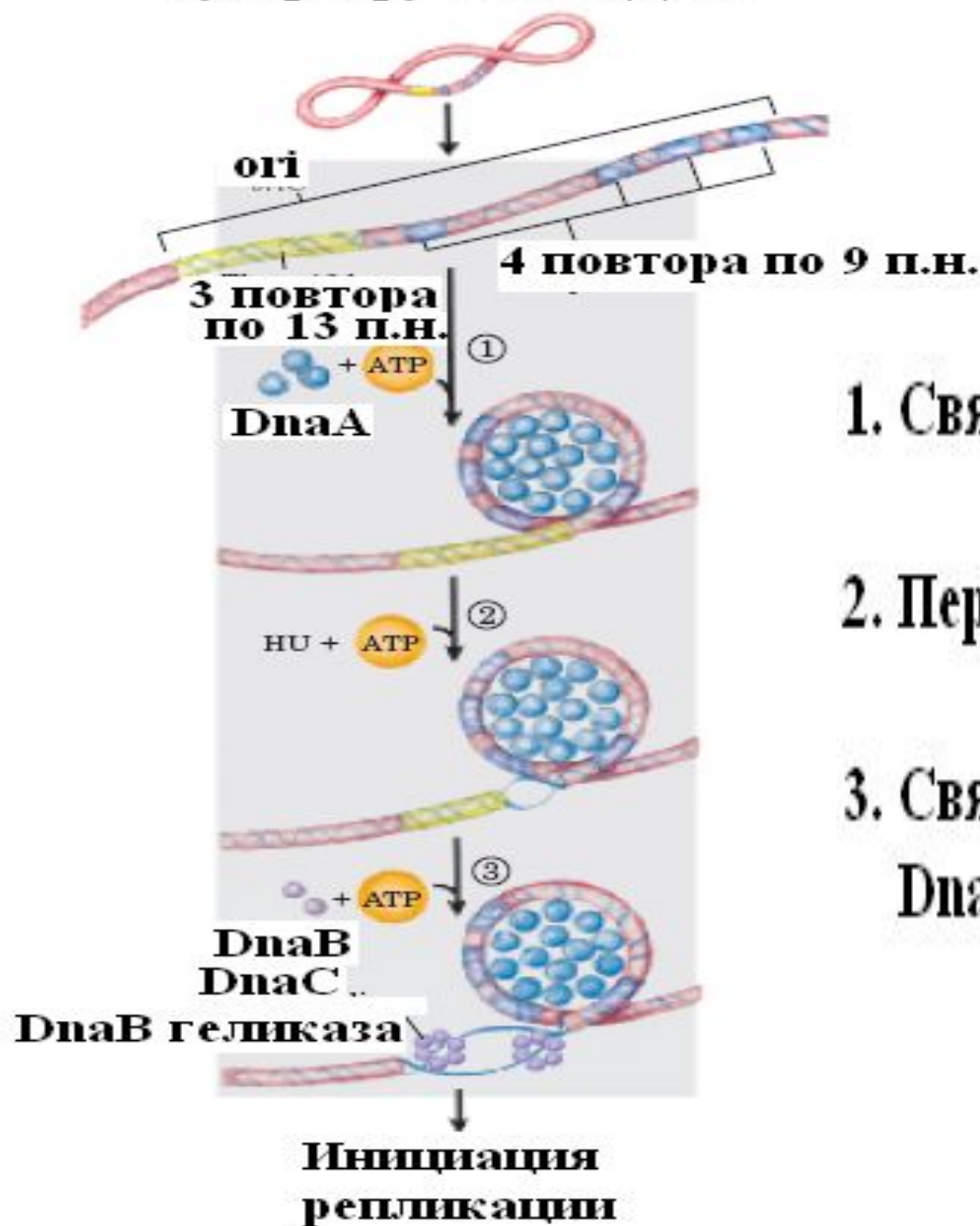
- ***Синтезирует РНК-затравки для синтеза дочерних нитей ДНК***

- **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

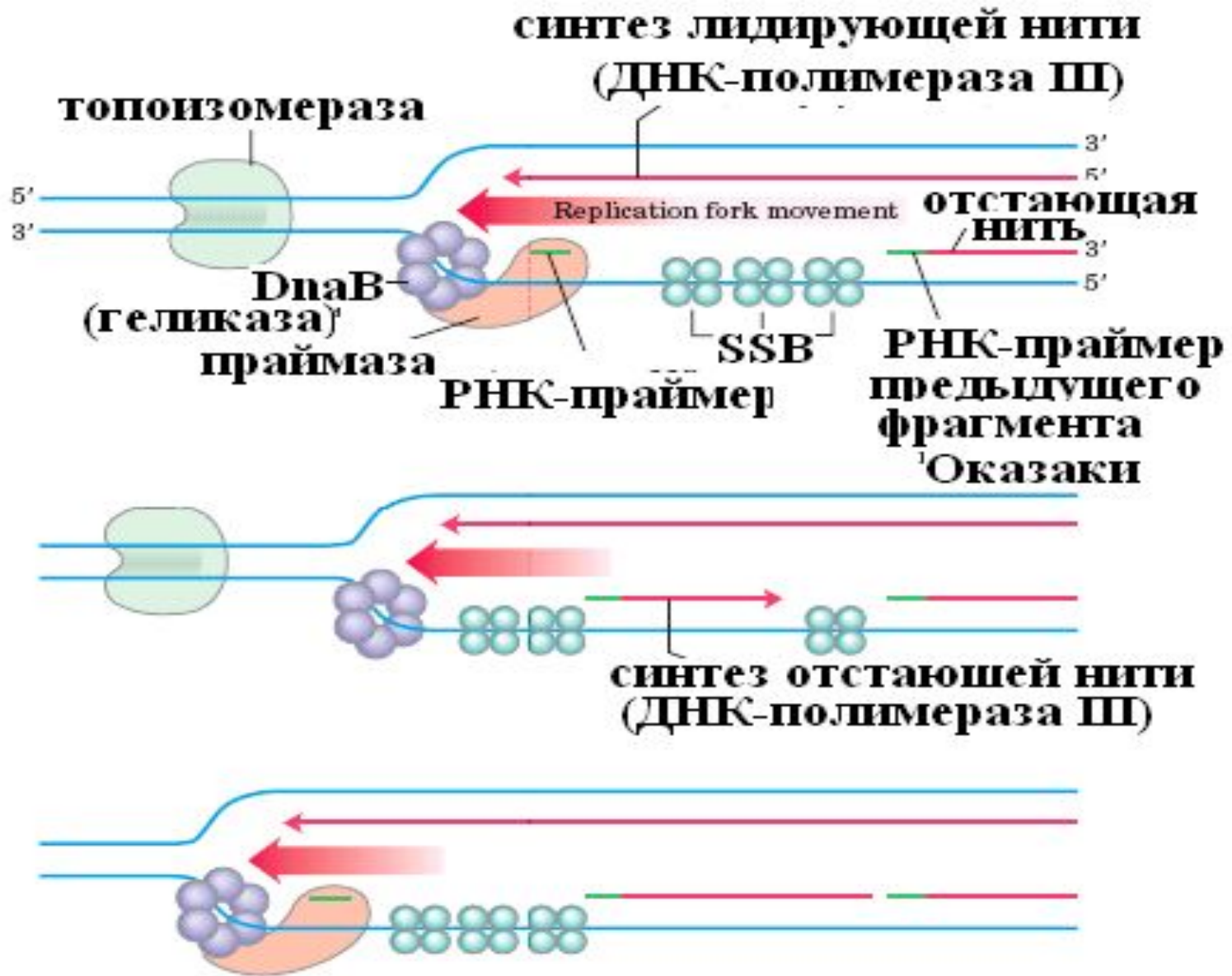


1. Связывание DnaA с ori

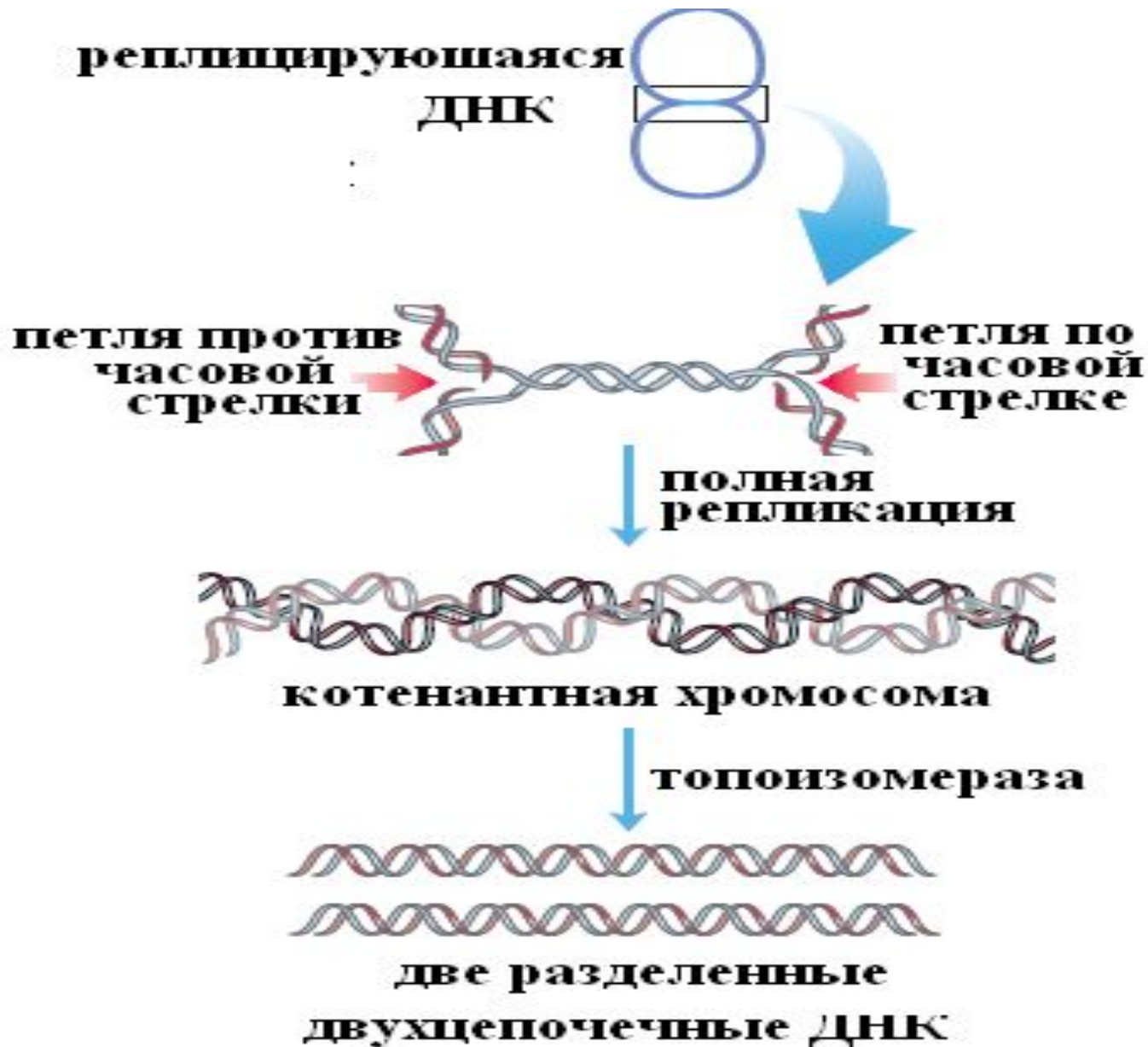
2. Первичная денатурация ДНК

3. Связывание геликазы DnaB и DnaC - начало репликации

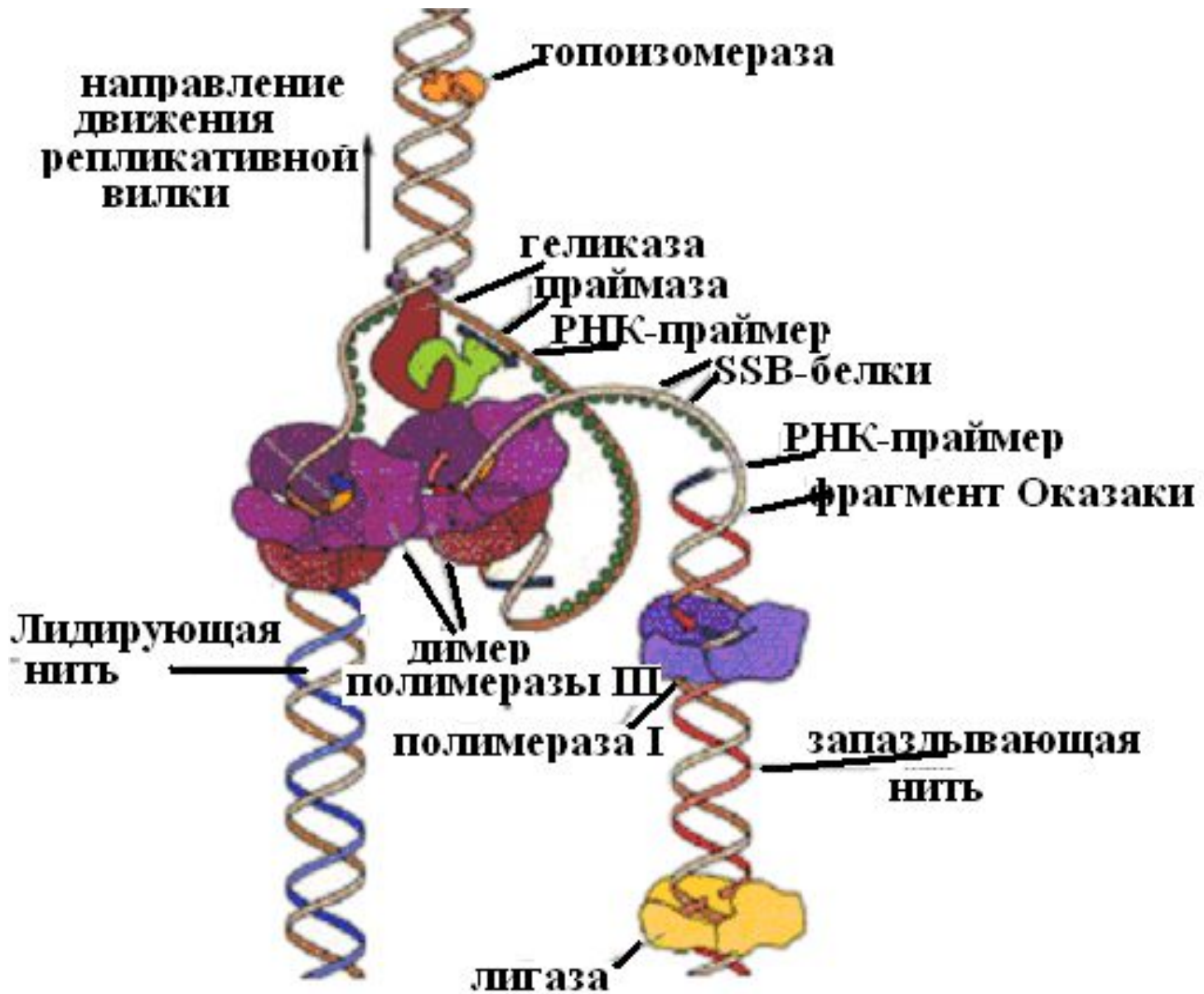
- Элонгация обеих нитей синтезирующейся ДНК



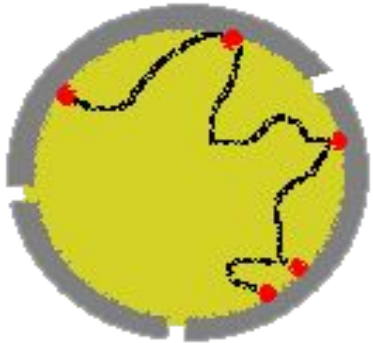
- **Терминация репликации**



- **Модель репликации ДНК E.coli**

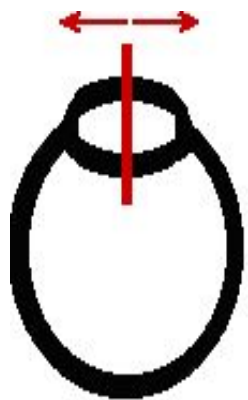


- Особенности репликации ДНК эукариот

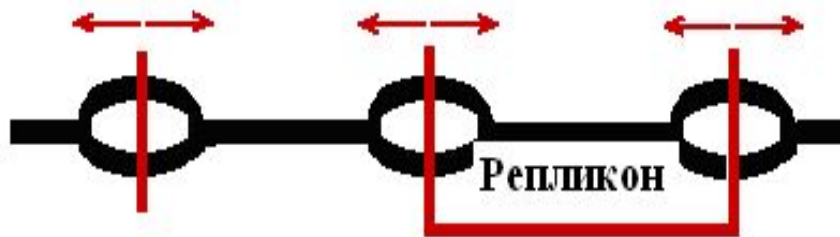


У эукариот ДНК закрепляется белками в нескольких местах на ядерной мембране. На каждом отдельном участке работает **топоизомераза**. Сколько участков, столько и *ori*.

- Каждая эукариотическая хромосома - полирепликон.



E.coli

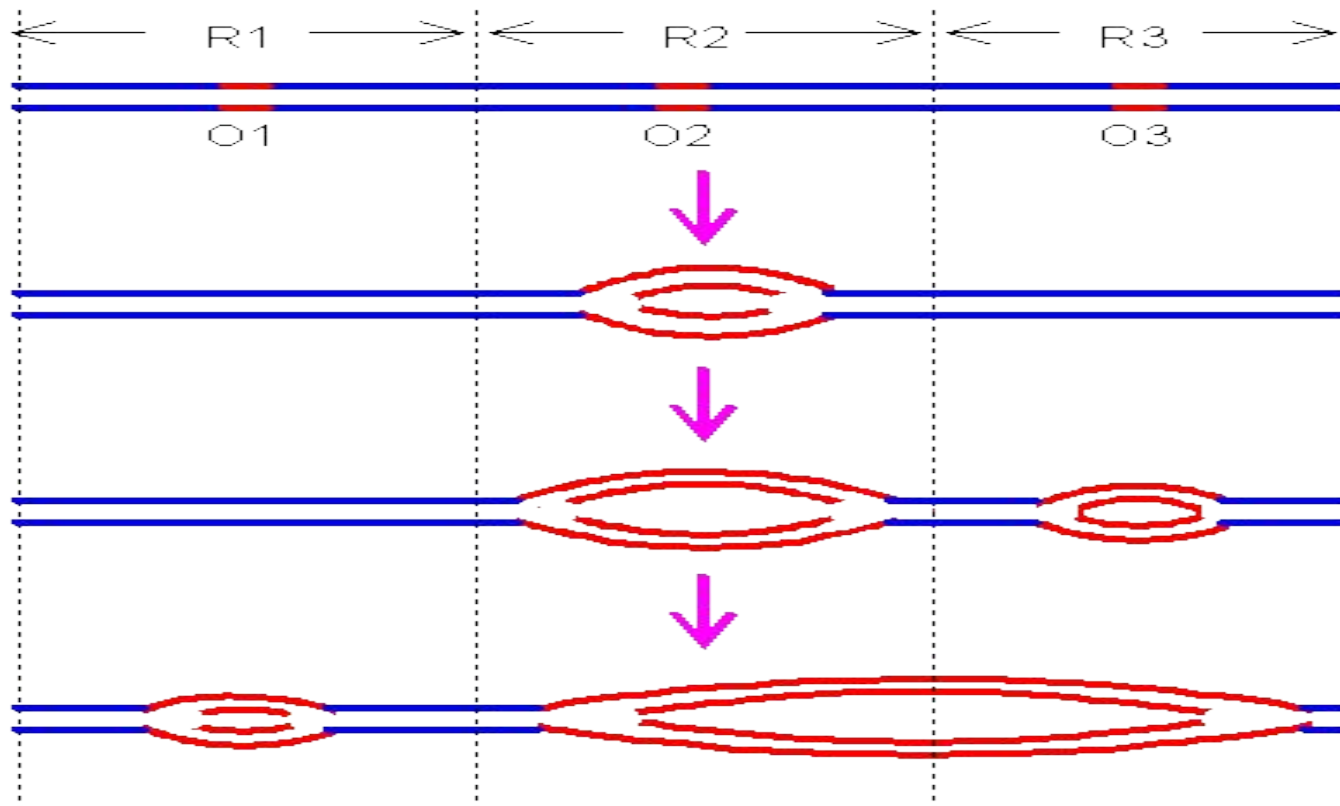


Эукариоты

репликон - участок ДНК между двумя *ori*

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

- **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.

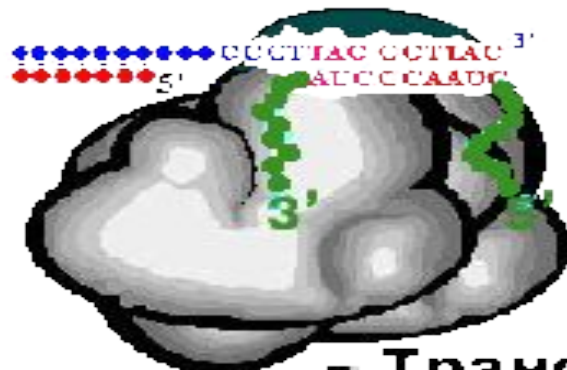


"материнская"
цепь ДНК
"дочерняя"
цепь ДНК

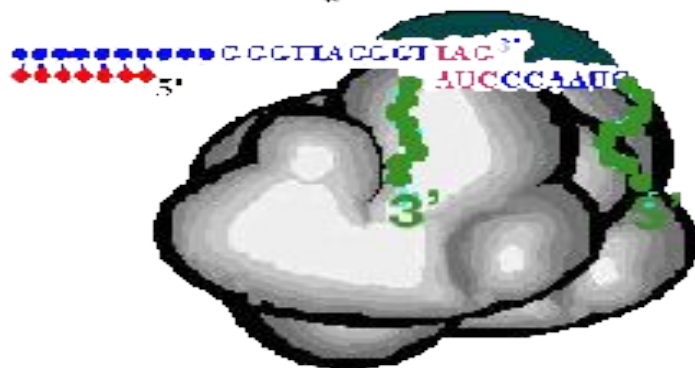


Теломеразная
РНК

↓ Элонгация



↓ Транслокация



• Белки и ферменты репликации

наименование	выполняемая функция	этап репликации

• Таблица матричных синтезов

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