

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

● 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

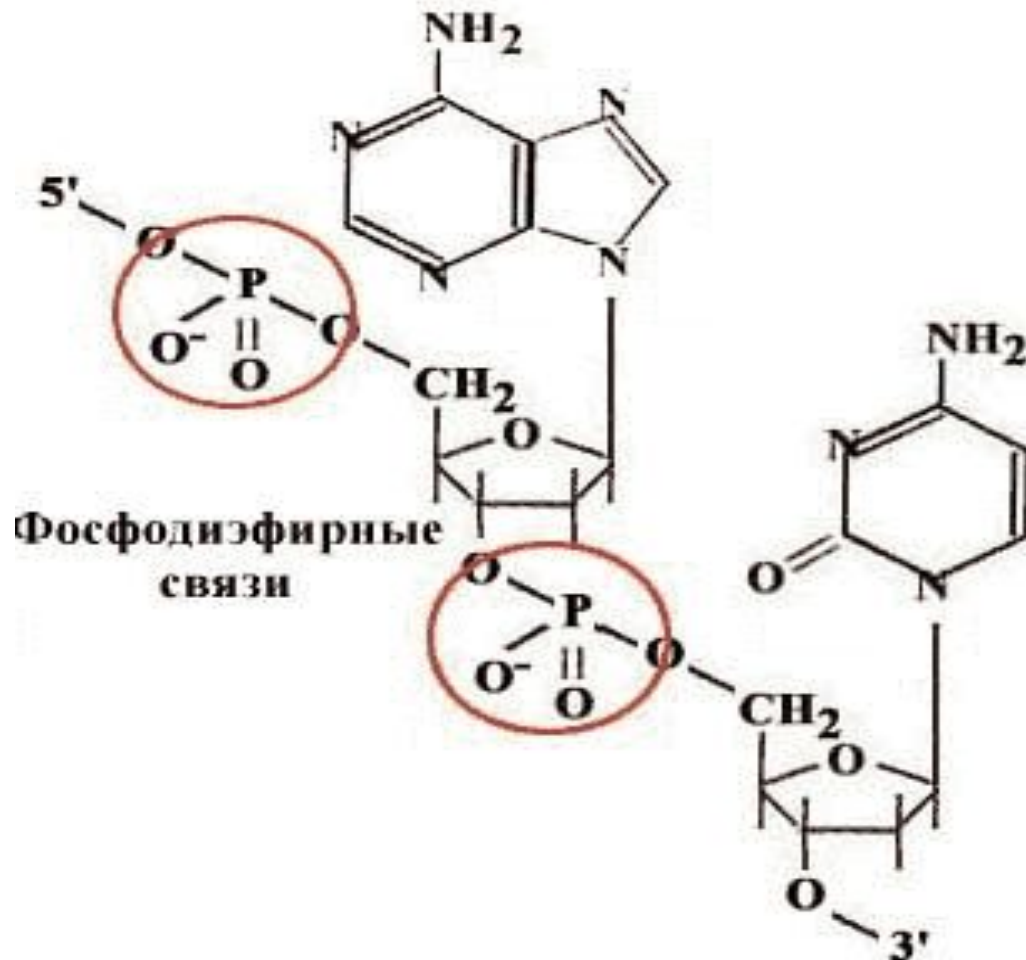
1947г. С помощью прямого и обратного титрования установлено, что в ДНК есть **водородные связи между группами N-H и C=O**. Гулланд

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).*

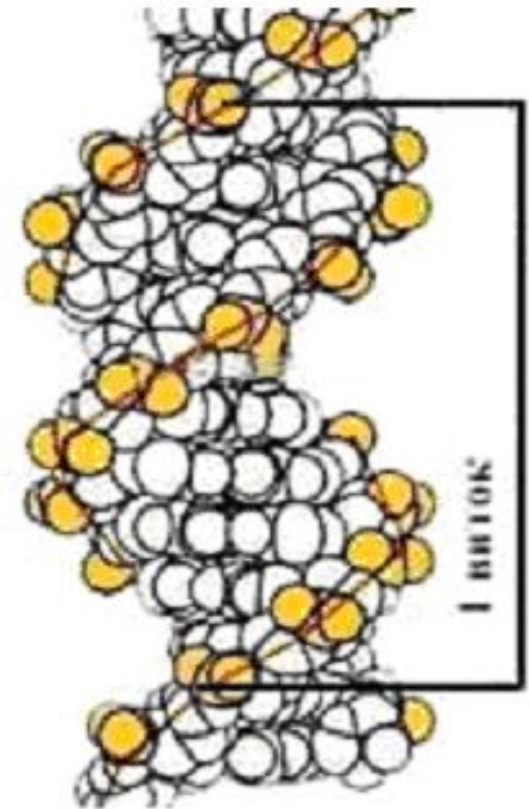
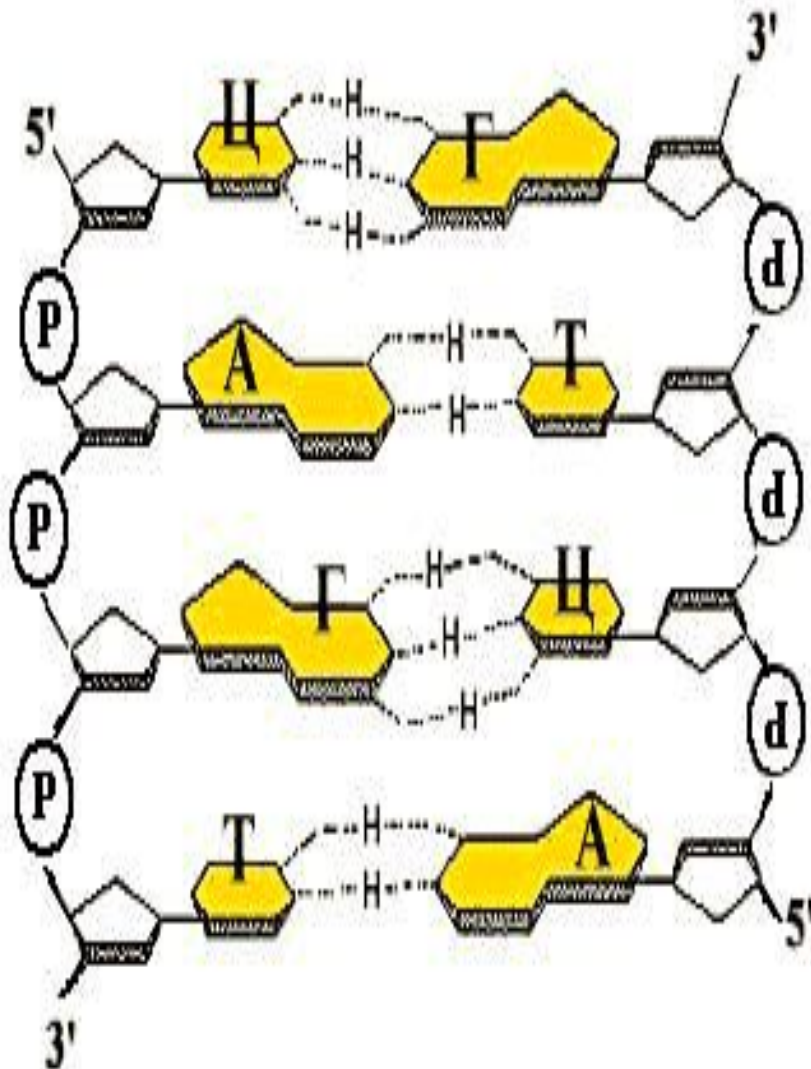
Каждому азотистому основанию одной цепи соответствует строго определенное азотистое основание другой цепи. Соответствие задается химией. Пурин и пиримидин в паре образуют водородные связи. В паре А-Т две водородные связи, в паре Г-Ц - три.

• 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**.

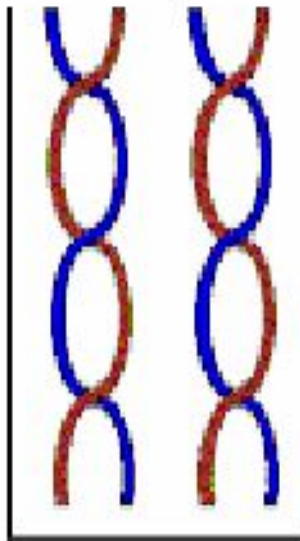
- ## РЕПЛИКАЦИЯ ДНК

*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.

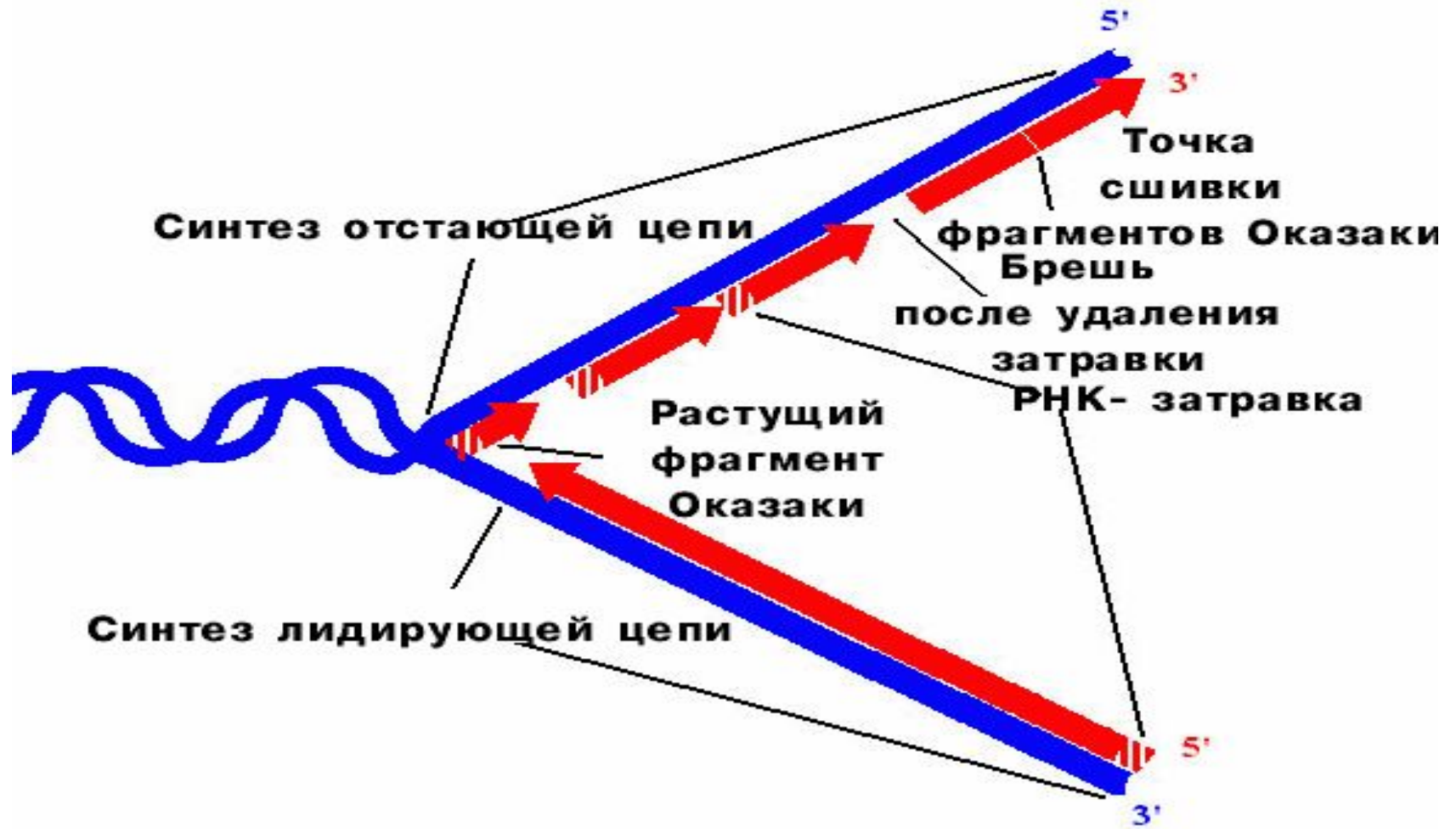
Полуконсервативный механизм



 Материнская цепь

 Дочерняя цепь

- 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).**



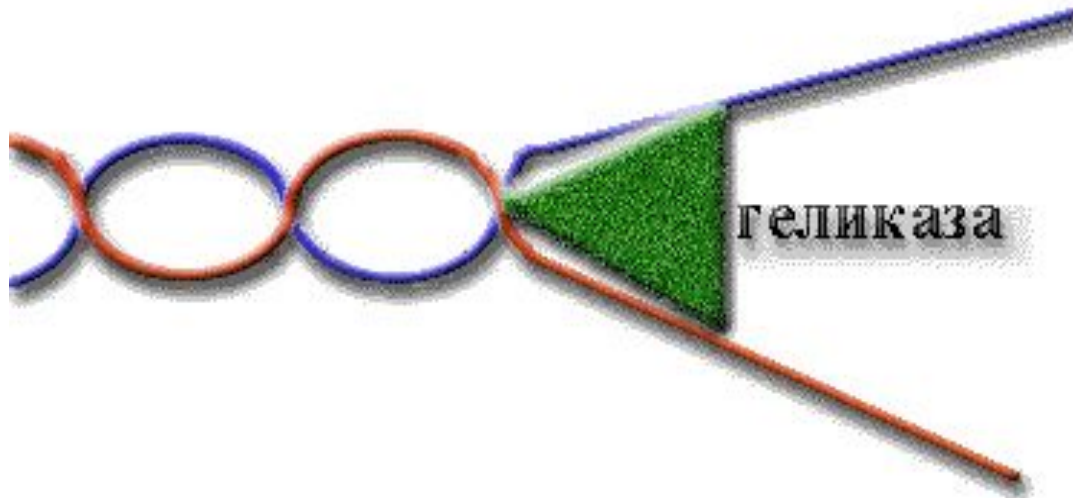
- **ФЕРМЕНТЫ РЕПЛИКАЦИИ**
- **ДНК-полимеразы**
- Эти ферменты присутствуют во всех прокариотических и эукариотических клетках.
- Сравнительные характеристики ДНК-полимераз E. Coli

Функция	ДНК-полимераза I	ДНК-полимераза II	ДНК - полимераза III
Полимеризация $5' \rightarrow 3'$	+	+	+
Гидролитическая активность $3' \rightarrow 5'$	+	+	+
Гидролитическая активность $5' \rightarrow 3'$	+	—	—

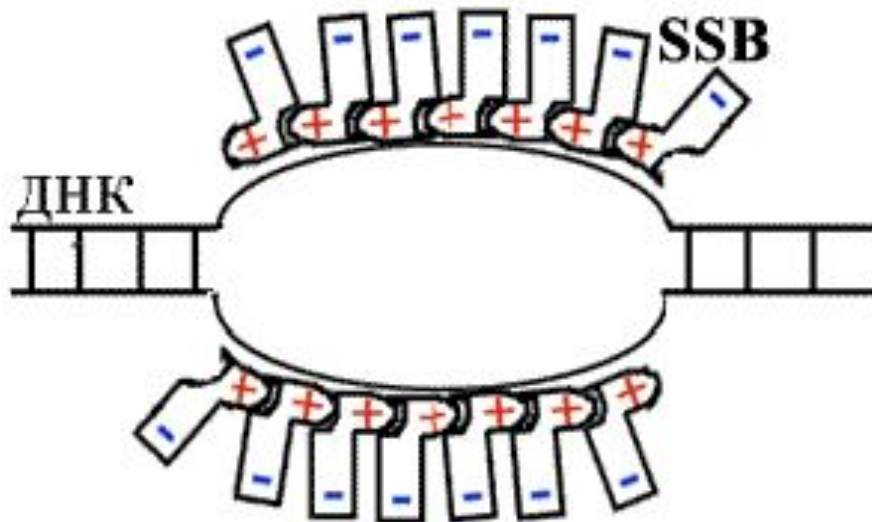
-
- К **репликации** имеют отношение **полимеразы I и III**.
- Причем *именно полимераза III является **репликазой**, т.е. она синтезирует *in vivo* новые цепи ДНК.*
- Участие ДНК-полимеразы I необходимо. У нее вспомогательная, репаративная функция.
- ДНК-полимераза II имеет отношение лишь к репарации

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.

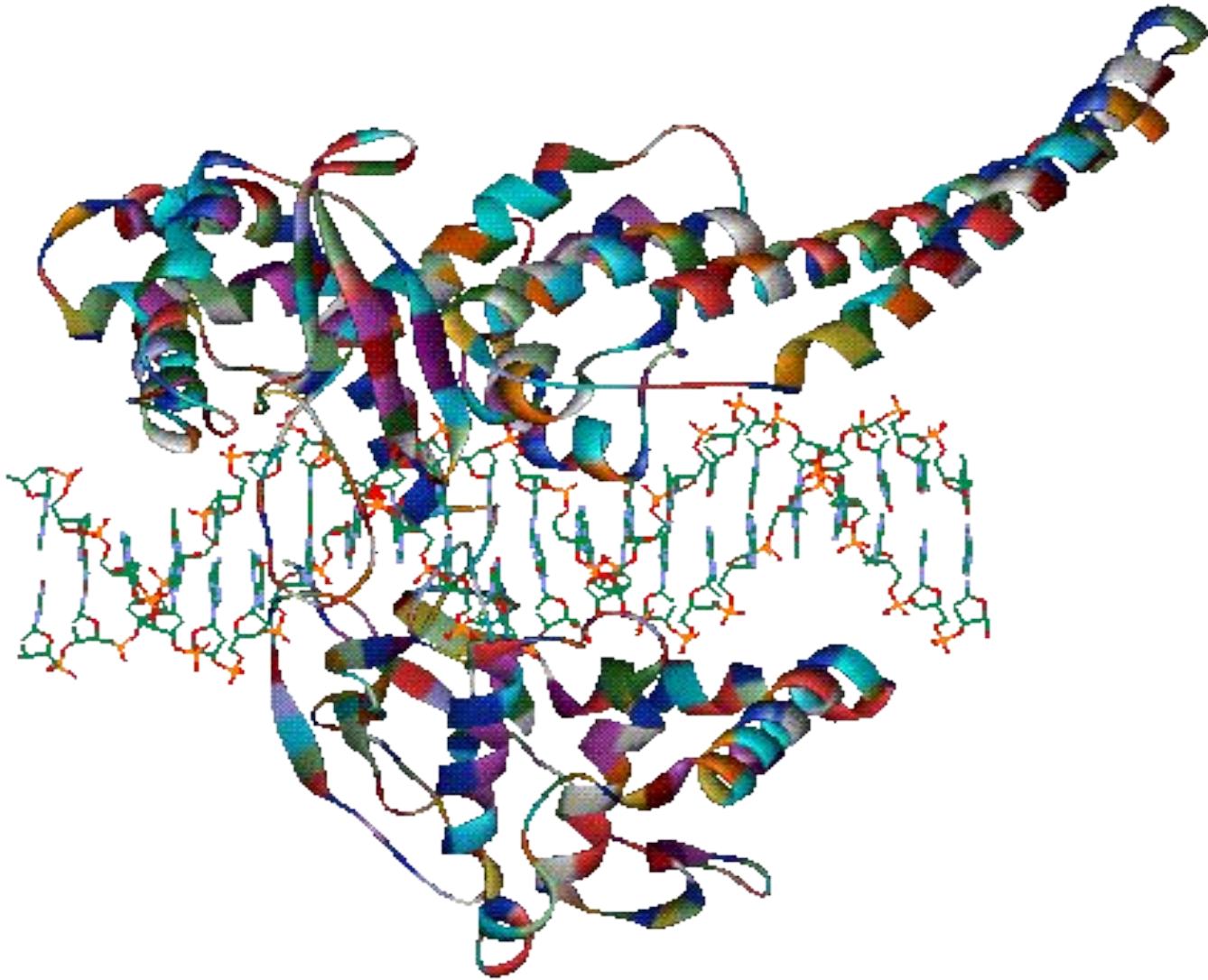


и избирательно
стимулируют
ДНК-полимеразы

• **Топоизомеразы**

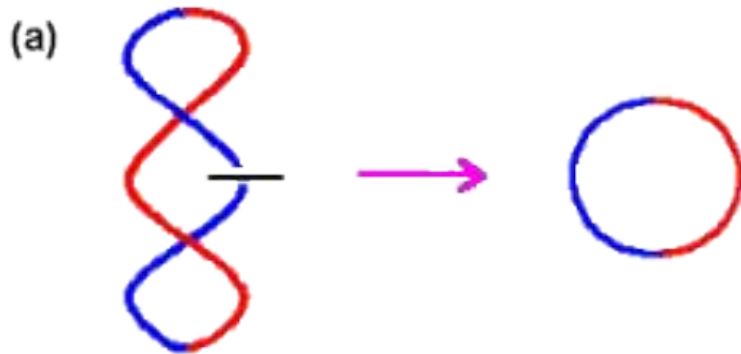
- *Топоизомеразы - ферменты, изменяющие топологию ДНК, т.е. катализирующие переходы в молекулах ДНК, связанные с изменением степени сверхспирализации..*
- Топоизомеразы меняют число зацеплений одной цепи за другую. Делятся на два класса:
- Тип I (*релаксазы*) - уменьшают число зацеплений.
- Тип II (*гиразы*)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

- **Комплекс топоизомеразы и ДНК**

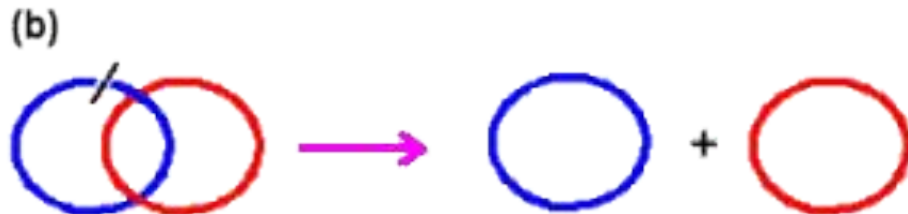


- **Механизм действия топоизомеразы**

- 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**

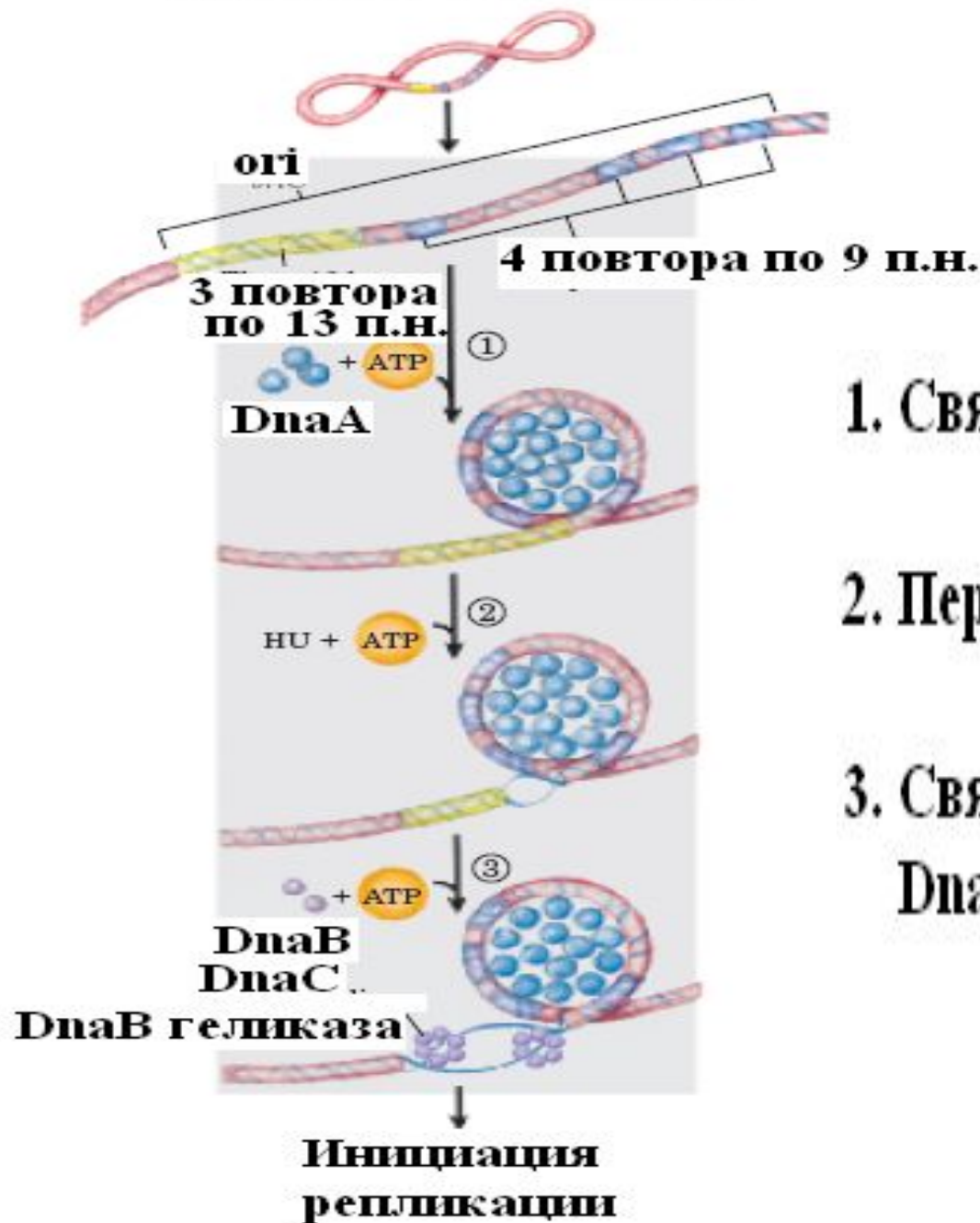
- *Синтезирует РНК-затравки для синтеза дочерних нитей ДНК*

- **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

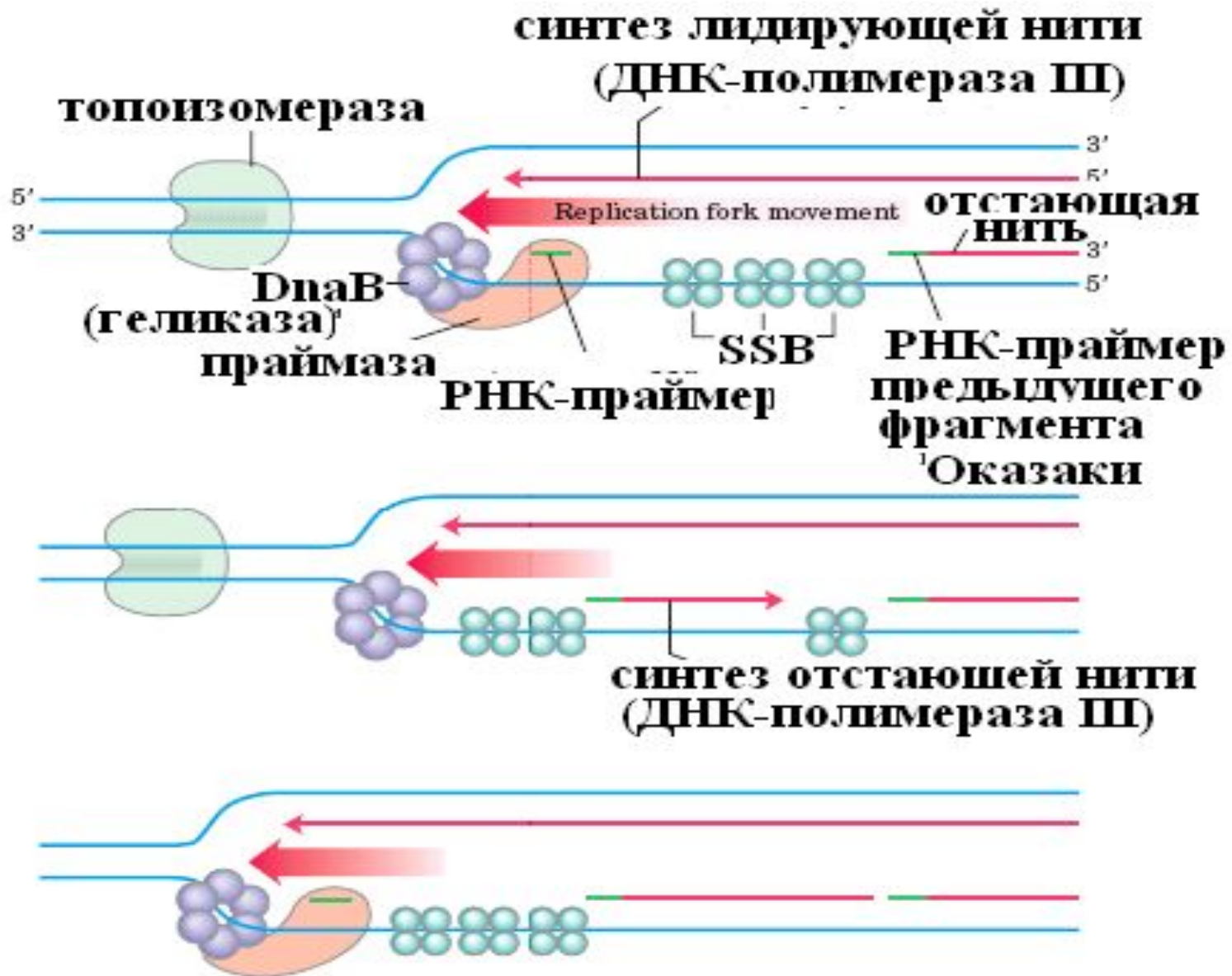


1. Связывание DnaA с ori

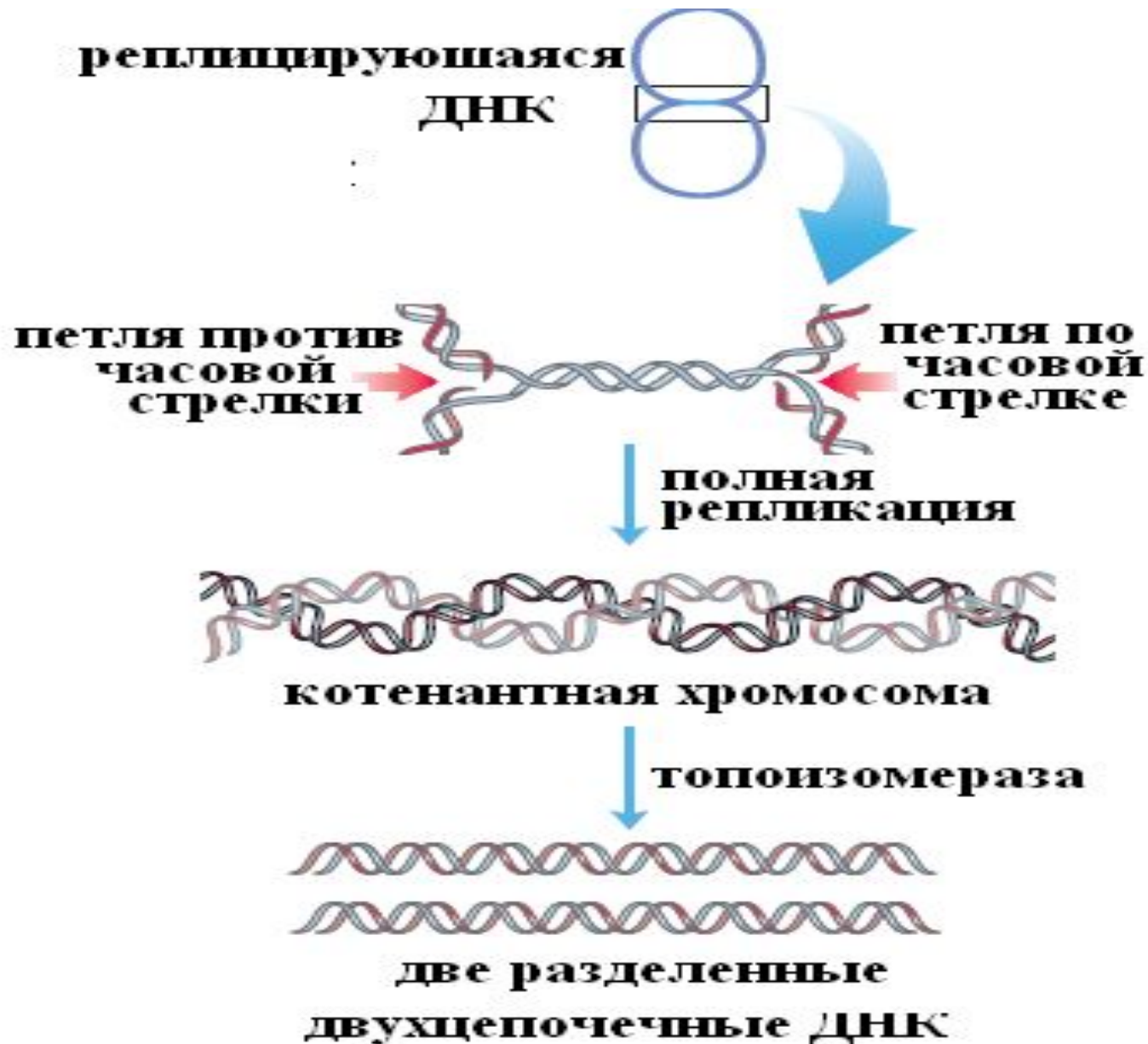
2. Первичная денатурация ДНК

3. Связывание геликазы DnaB и DnaC - начало репликации

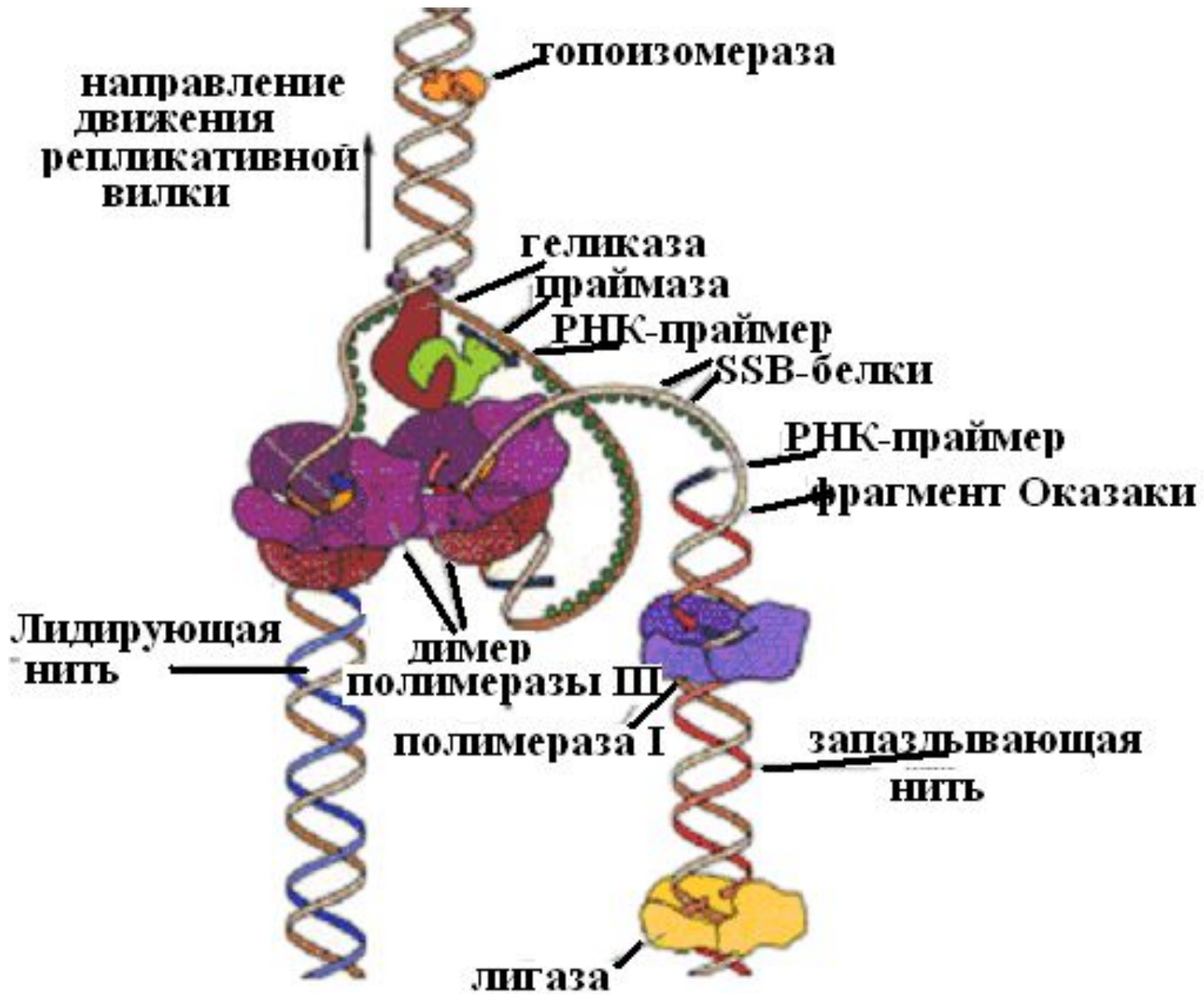
- Элонгация обеих нитей синтезирующейся ДНК



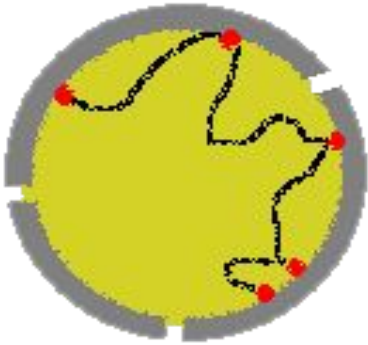
- Терминация репликации



- **Модель репликации ДНК E.coli**

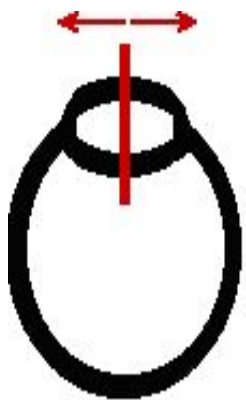


- Особенности репликации ДНК эукариот

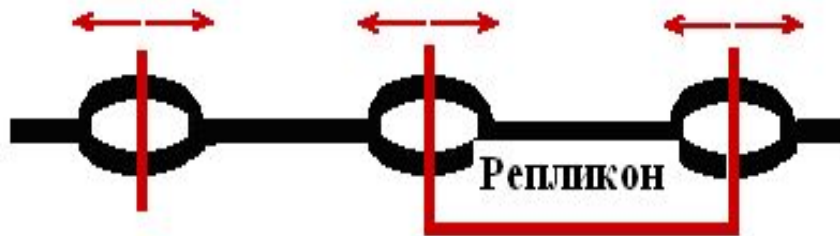


У эукариот ДНК закрепляется белками в нескольких местах на ядерной мембране. На каждом отдельном участке работает **топоизомераза**. Сколько участков, столько и *ori*.

- Каждая эукариотическая хромосома - полирепликон.



E.coli

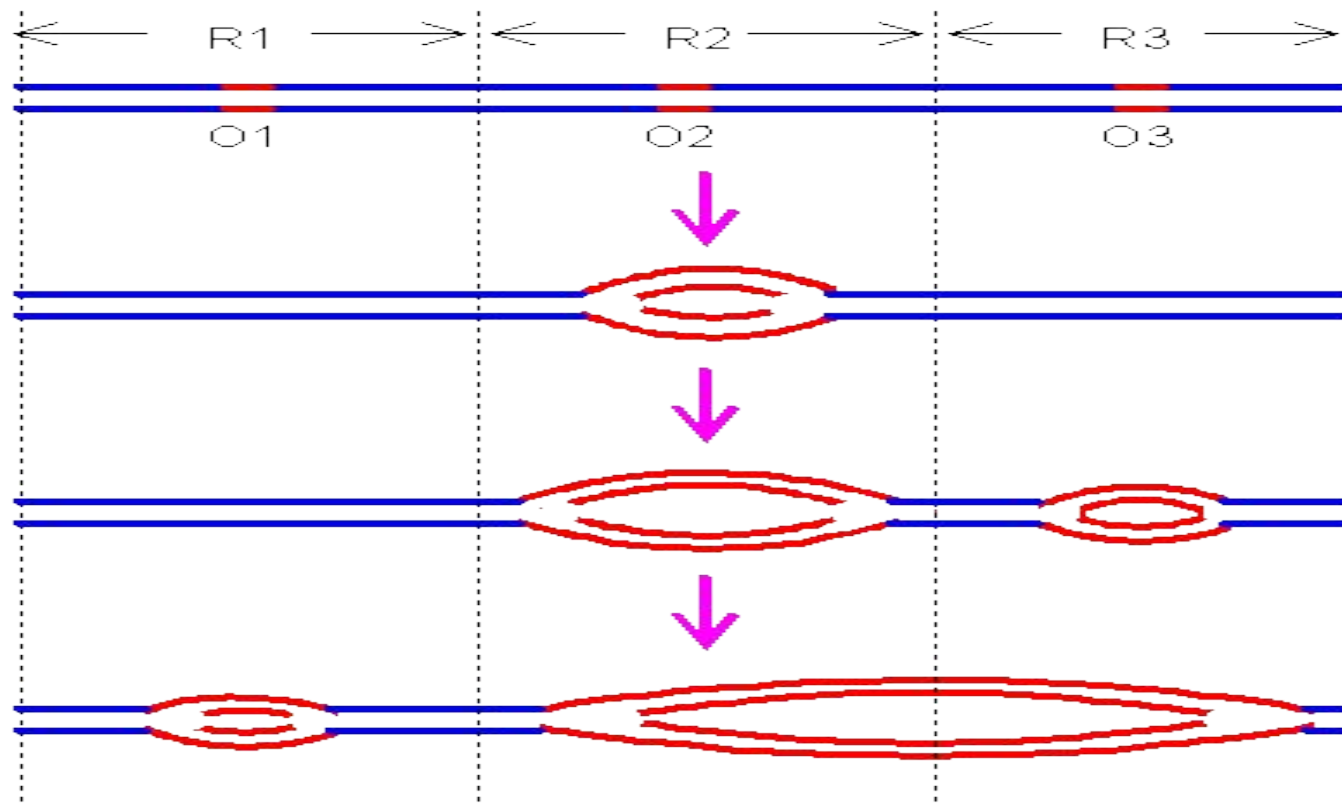


Эукариоты

**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 хромосом 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.

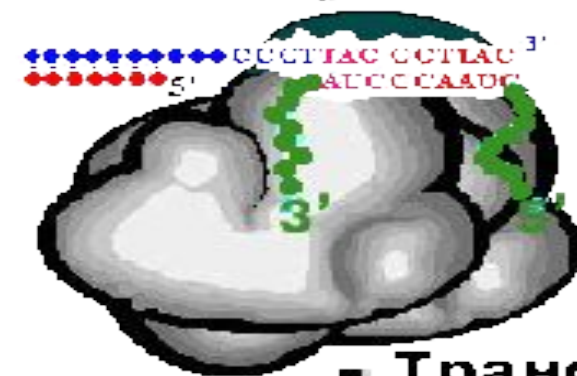


"материнская"
цепь ДНК
"дочерняя"
цепь ДНК

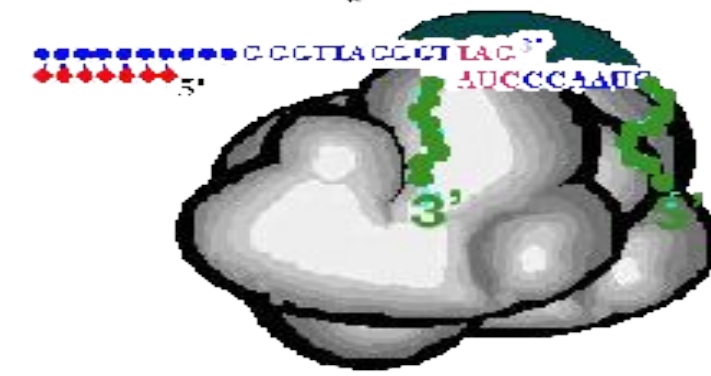


Теломеразная
РНК

↓ 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			