



БИОМОЛЕКУЛИ

НУКЛЕИНСКИ КИСЕЛИНИ. II ДЕЛ

2016 НАТАША РИСТОВСКА
ИНСТИТУТ ПО ХЕМИЈА
ПРИРОДНО-МАТЕМАТИЧКИ ФАКУЛТЕТ, СКОПЈЕ



СТРУКТУРА НА НУКЛЕИНСКИ КИСЕЛИНИ



МАЛКУ ИСТОРИЈА

- DNA била **изолирана и опишана од Фридрих Мишер** (Friedrich Miescher), во **1868** година.
- Супстанцата што покрај C, H и N, содржела **фосфор**, тој ја нарекол „**нуклеин**“.
- Првични показатели за **биолошката функција на DNA**: Освалд Т. Ејвери (Oswald T. Avery), Колин Меклеод (Colin MacLeod) и Меклин Меккарти (Maclyn McCarty) (1940) откриле дека со инјектирање на вирулентна на бактеријата *Streptococcus pneumoniae*, во невирулентна низа од истата бактерија, дошло до **трансформација на невирулентната низа во вирулентна**.
- **Заклучок**: DNA од вирулентната низа **ја носела генетската информација** за вирулентноста.
- Потврда во **1952** : Алфред Д. Херши (Alfred D. Hershey) и Марта Чејс (Martha Chase) при експерименти изведувани со радиоактивно обележана DNA или протеин.

НИВОА НА СТРУКТУРНА ОРГАНИЗАЦИЈА

Кај нуклеинските киселини разликуваме неколку типови (нивои) на структурна организација:

- **Примарна структура:** ковалентна структура и нуклеотидна секвенца. Во секвенцата е содржана генетската информација што го определува редоследот на аминокиселини при биосинтеза на протеини.
- **Секундарна структура:** правилна, тридимензионална стабилна структура на нуклеотидите во полинуклеотидната низа (пр. α –хеликс).
- **Терцијарна структура:** комплексни структури на пакување на нуклеинските киселини во јадрата на еукариотските и прокариотските клетки.

ПРИМАРНА СТРУКТУРА

- Примарната структура ја претставува **ковалентната структура на полинуклеотидната низа и нуклеотидната секвенца**.
- Нуклеотидната секвенца се претставува преку кратенките за органските азотни бази, започнувајќи со 5' крајот

Кратка форма : GTAC

- Проширена форма со вклучување на кратенка за фосфатна група (p):

pGpTpApC

pGpTpApCON

- Може да се користат кратка и проширена формула со или без крајната 3'-ОН.
- При поврзување на нуклеотидите во антипаралелна насока од 3' кон 5', нуклеотидната секвенца на низата се пишува:

ApCpGpTpTp

- Примарната структура на нуклеинската киселина се определува со методи за секвенционирање.



СЕКУНДАРНА СТРУКТУРА НА DNA



СЕКУНДАРНА СТРУКТУРА НА DNA

- **James Watson и Francis Crick** во 1953 година, предложиле модел за тридимензионалната структура на DNA.
- Заедно со Maurice Wilkins се **добитници на Нобеловата награда за Физиологија во медицината во 1962 година**, за откритијата на молекулската структура на нуклеинските киселини и нивната важност во пренесувањето на информациите во живата материја.



James Watson



Francis Crick



**DNA на задната
страна од англиската
монета за 2 фунти**

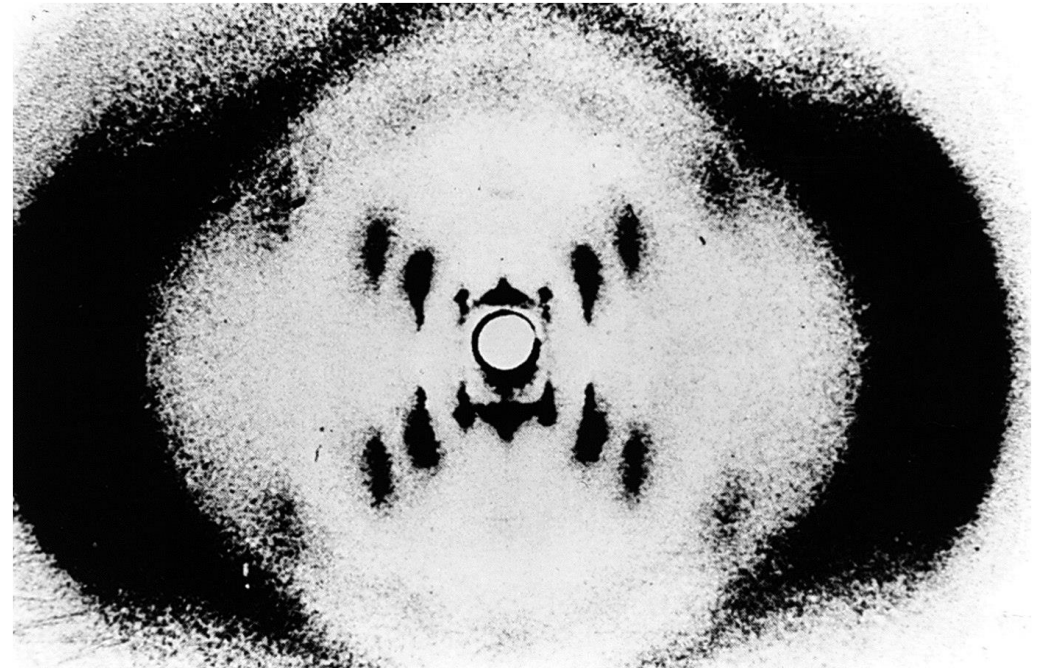
ПОДАТОЦИ ПОЗНАТИ ЗА WATSON И CRICK

1. Кристалографските податоци од **Rosalind Franklin** и **Maurice Wilkins**, добиени со рендгенска дифракција.

Податоците покажале дека молекулите на DNA имаат **структура на хеликс** која **периодично се повторува** по должината на нејзината оска. **Првото повторување е на 3,4 Å, а второто повторување е на 34 Å.**

Дифрактограм на DNA. Точките што формираат крст во центарот ја означуваат спиралната структура. Подебелите појаси, налево и надесно, произлегуваат од периодичното повторување на базите.

2. **Правилото на Chargaff.**



дифрактограм на DNA

ПОДАТОЦИ ПОЗНАТИ ЗА WATSON И CRICK

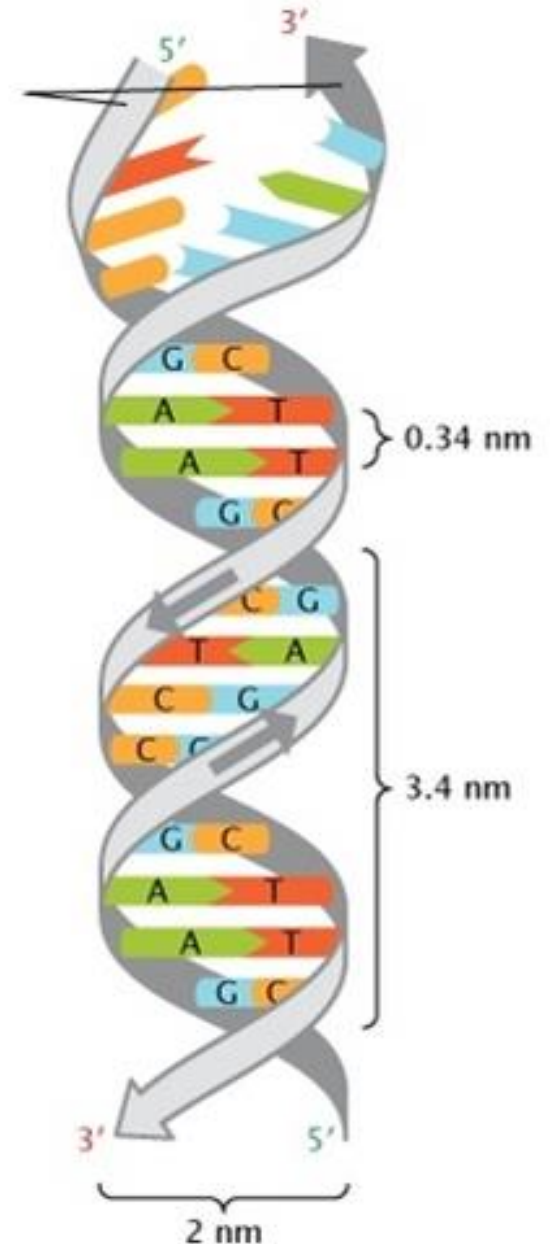
- Откритие на Erwin Chargaff: четирите азотни бази се различно застапени во различни организми, а количествата на некои од нив се тесно поврзани.
- **ПРАВИЛА НА CHARGAFF**
 1. Составот на DNA бази е различен меѓу видовите.
 2. Различни ткива на ист вид имаат ист состав на базите во DNA.
 3. Составот на бази кај видовите не зависи од возраста, исхраната или промена на средината.
 4. Во секој вид клеточна DNA, $A=T$ и $G=C$, односно $[\text{пурини}] = [\text{пиримидини}]$, што значи $A+G = T+C$
- Правилата на Chargaff добиле смисол со нивната примена во структурата на DNA од Watson и Crick (поставена 1953).

СОСТАВ НА АЗОТНИ БАЗИ КАЈ НУКЛЕИНСКИТЕ КИСЕЛИНИ

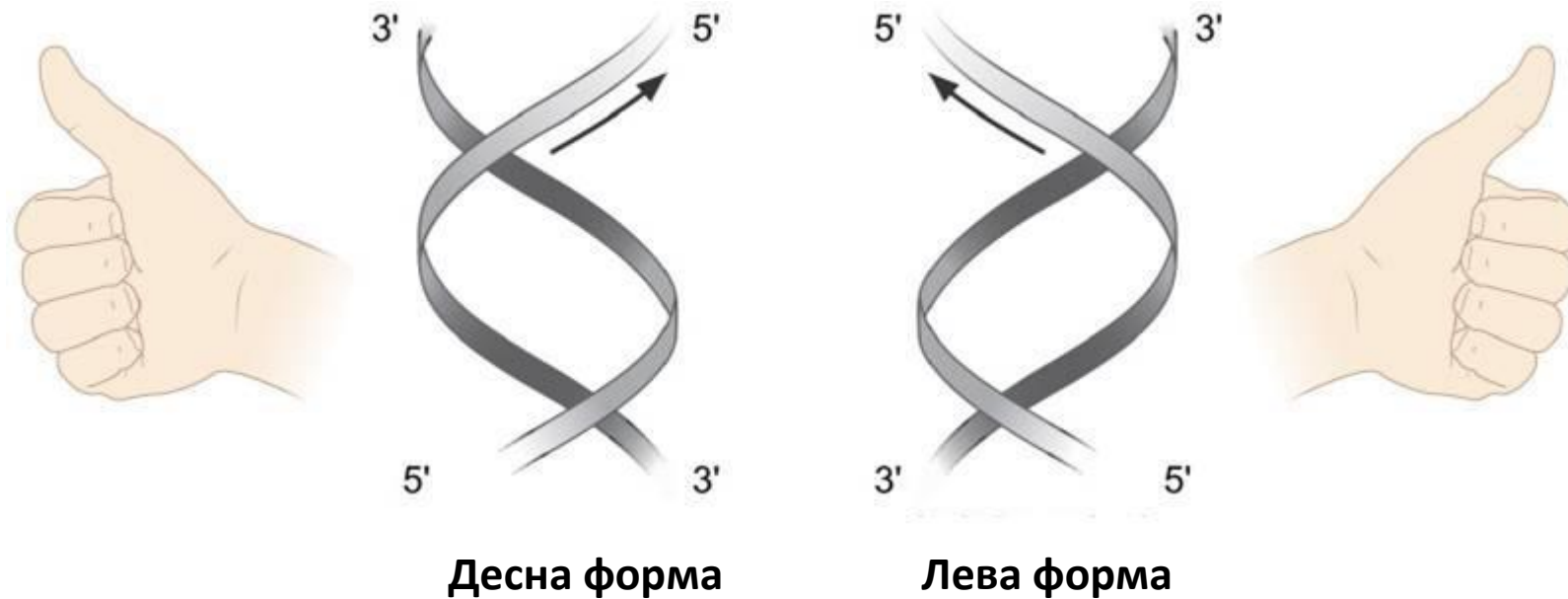
Вид	A:T	G:T	A:G
Човек	1,00	1,00	1,00
Пастрмка	1,02	1,02	1,43
Пченица	1,00	0,97	1,22
Квасец	1,03	1,02	1,67
<i>Escherichia coli</i>	1,09	0,99	1,05
<i>Serratia marcescens</i>	0,95	0,86	0,70

МОДЕЛ НА DNA СПОРЕД ВОТСОН И КРИК

- Молекулата на DNA се состои од **две полинуклеотидни низи со спротивна насока** на протегање (антипаралелни: $5' \rightarrow 3'$ и $3' \rightarrow 5'$),
- Низите од деоксирибоза и фосфатни остатоци меѓусебно поврзани преку дифосфоестерски врски, спирално се извиткуваат околу иста оска и формираат двојна спирала (**двоен хеликс**).
- Двете низи се хоризонтално поврзани преку **водородни врски меѓу комплементарните парови бази**.
- **Дијаметарот** на хеликсот зависи од типот на DNA, просечно изнесува околу **2 nm** ($18-26 \text{ \AA}$).



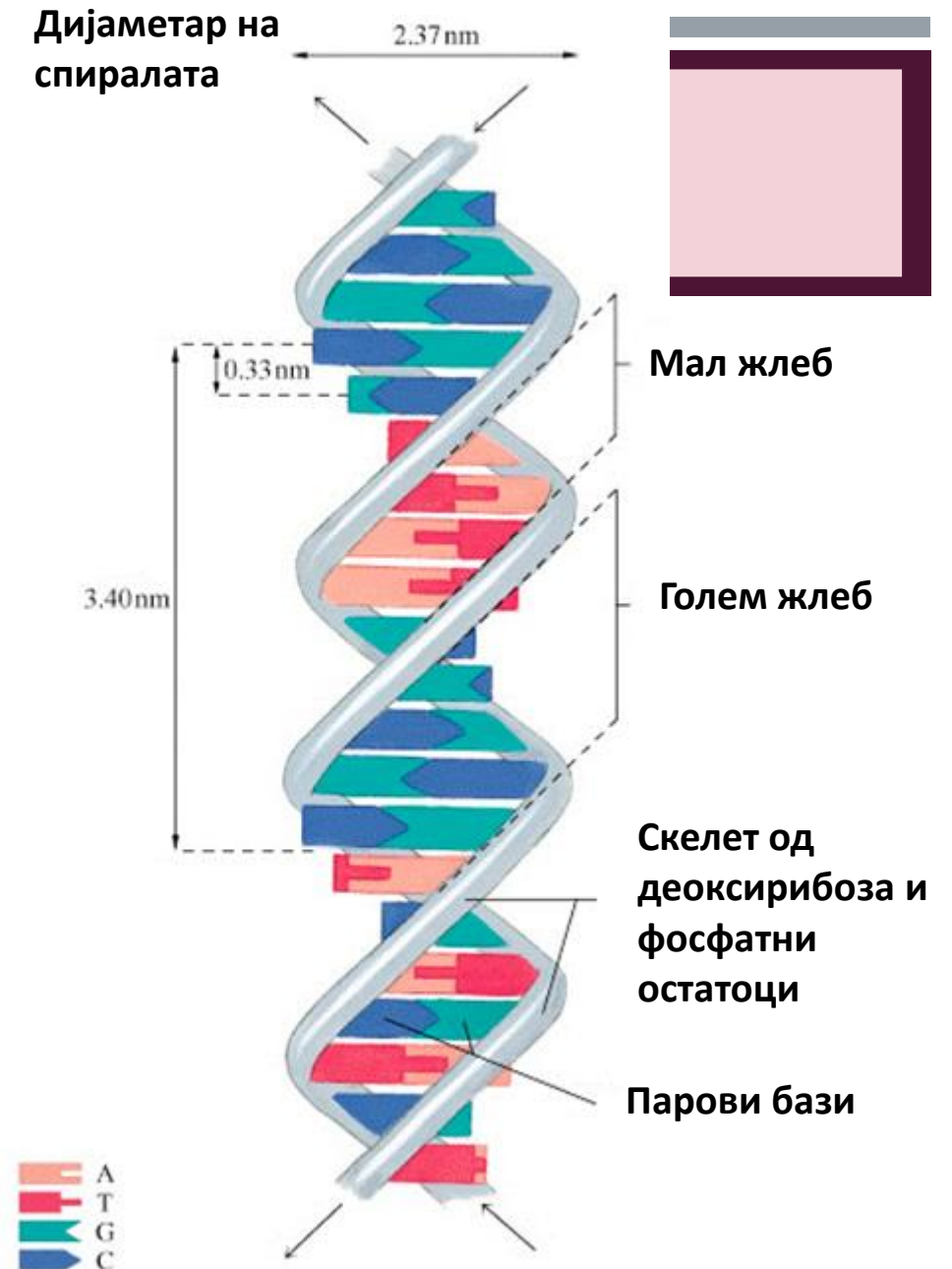
МОДЕЛ НА DNA СПОРЕД ВОТСОН И КРИК



- Двете хеликални DNA низи, се извиткуваат околу иста оска при што формираат двојна деснорака спирала

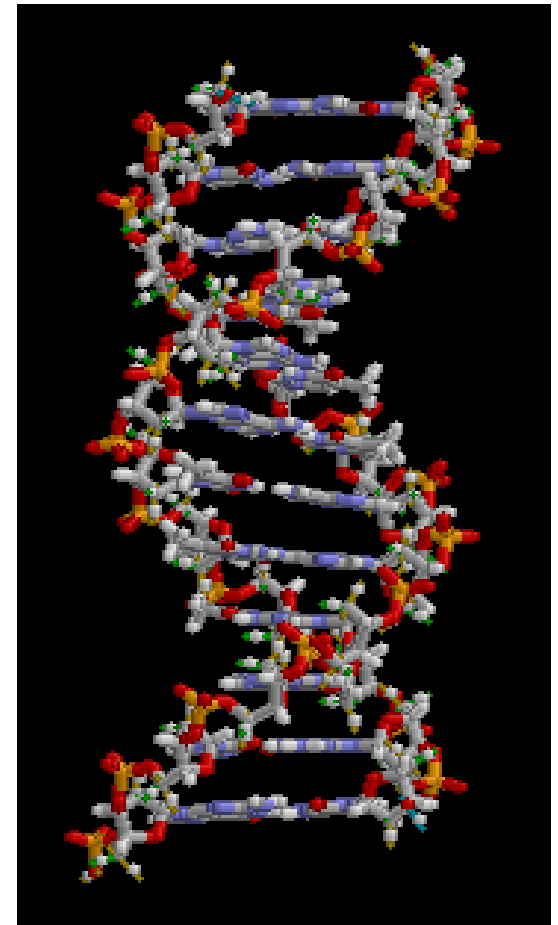
МОДЕЛ НА DNA СПОРЕД ВОТСОН И КРИК

- Оригиналниот модел предложен од Ватсон и Крик содржел 10 парови бази, или $34 \text{ \AA}$ ($3,4 \text{ nm}$) во еден свиок од спиралата.
- Од на хеликсот е $0,33 \text{ nm}$ /нуклеотид.
- Од на свиокот е $3,4 \text{ nm}$ /свиок.
- Со понатамошните мерења се открило дека има **10,5 парови бази или $36 \text{ \AA}$ ($3,6 \text{ nm}$) во еден свиок.**
- Карактеристика на моделот на DNA е постоењето на **два жлеба: мал и голем**, одговорни за интеракцијата со други лиганди (особено со протеините) и за биосинтезата на протеините.

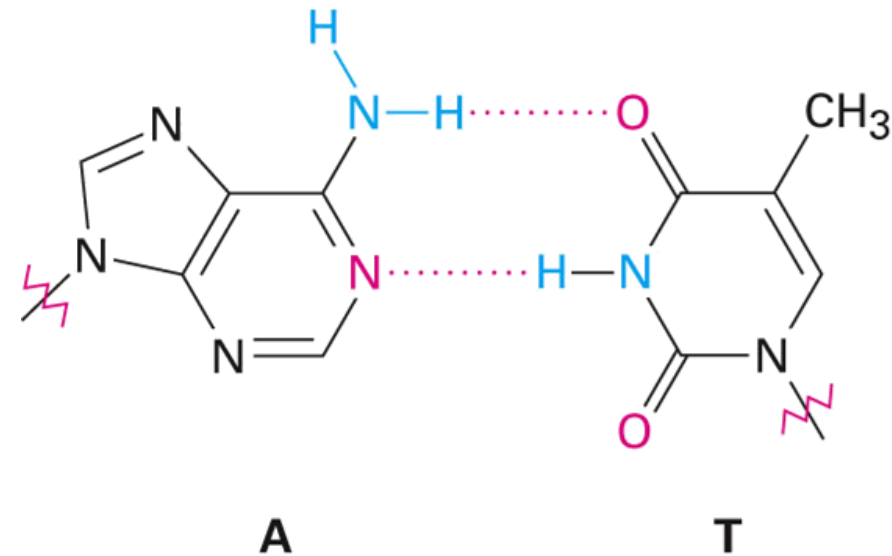
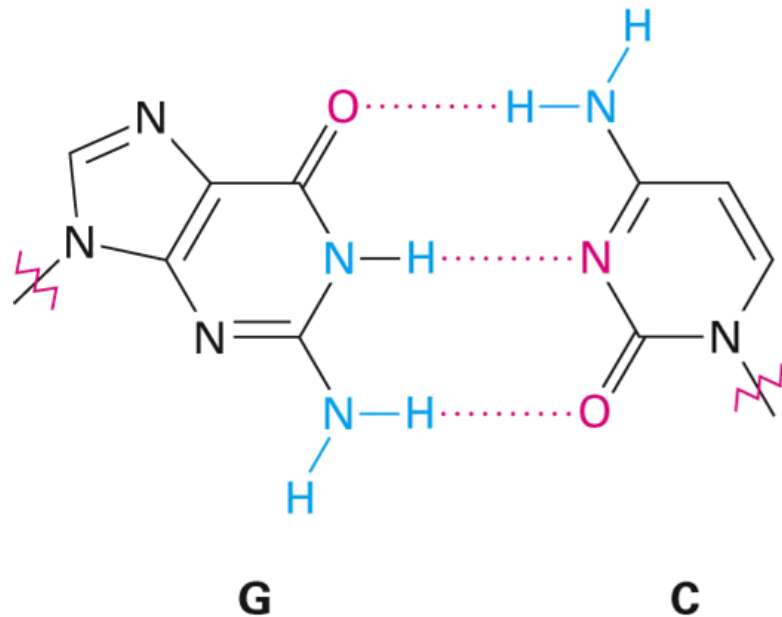


МОДЕЛ НА DNA СПОРЕД ВОТСОН И КРИК

- Постојат разлики во поларноста на различни делови од молекулата на DNA:
 - Хидрофилните скелети на деоксирибоза и фосфатни групи се наоѓаат на надворешната страна од двојната спирала, свртени кон водата.
 - Пуринските и пиримидинските бази од двете низи се подредени во внатрешноста на двојниот хеликс.
- Фуранозниот прстен на секоја деоксирибоза се наоѓа во **C-2'** ендоконформација.
- Планарните структури на азотните бази се блиску една до друга, **нормално** поставени **во однос на долгата оска**.



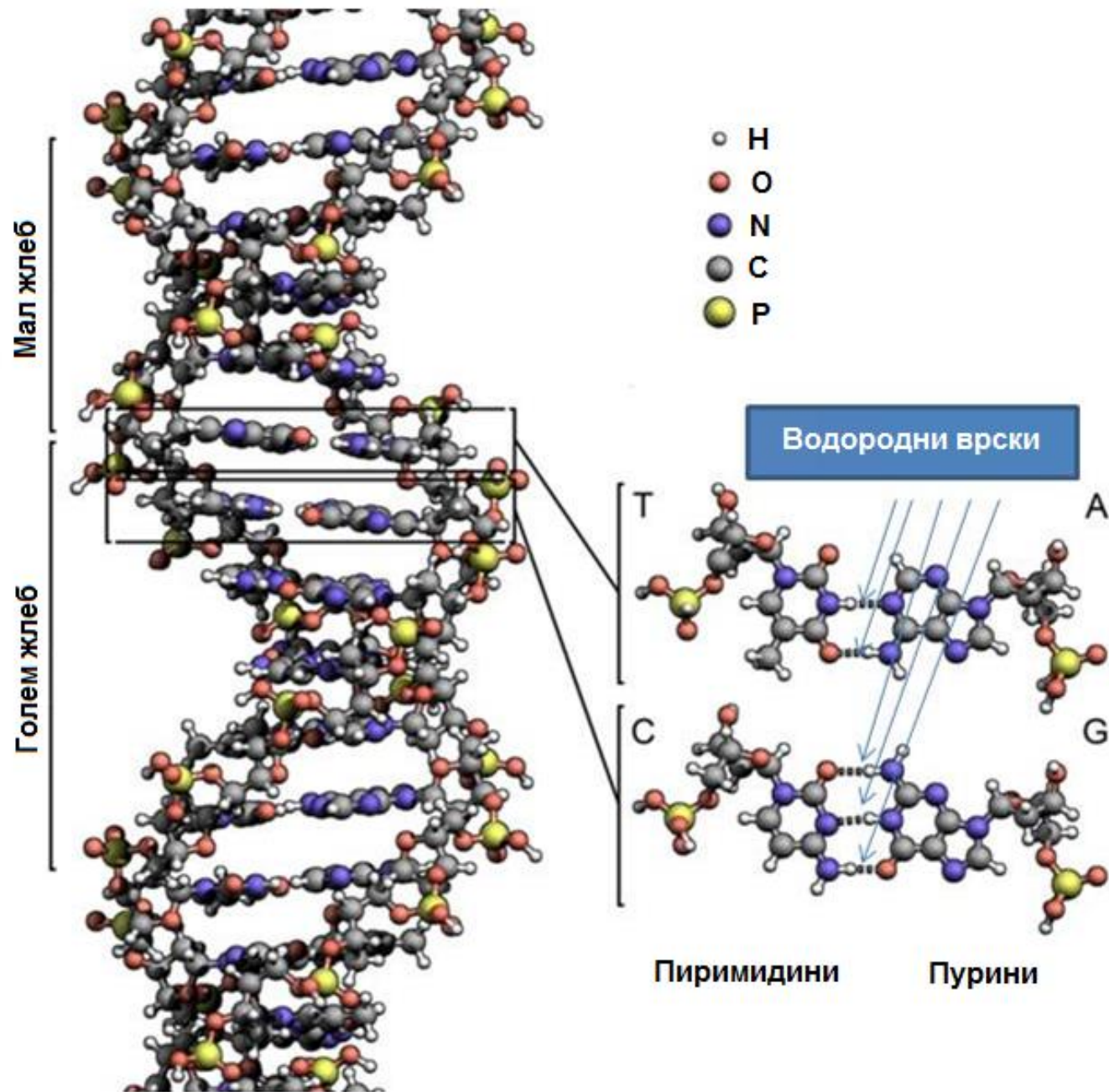
МОДЕЛ НА DNA СПОРЕД ВОТСОН И КРИК



- Секоја база во нуклеотидот од едната низа се сврзува во истата рамнина со базата од другата низа.
- Гванин (G) и цитозин (C) формираат три силни водородни врски меѓу себе (**G ≡ C**), но не и со A или T.
- Аденин (A) и тимин (T) формираат две силни водородни врски меѓу себе (**A = T**), но не и со C или G.

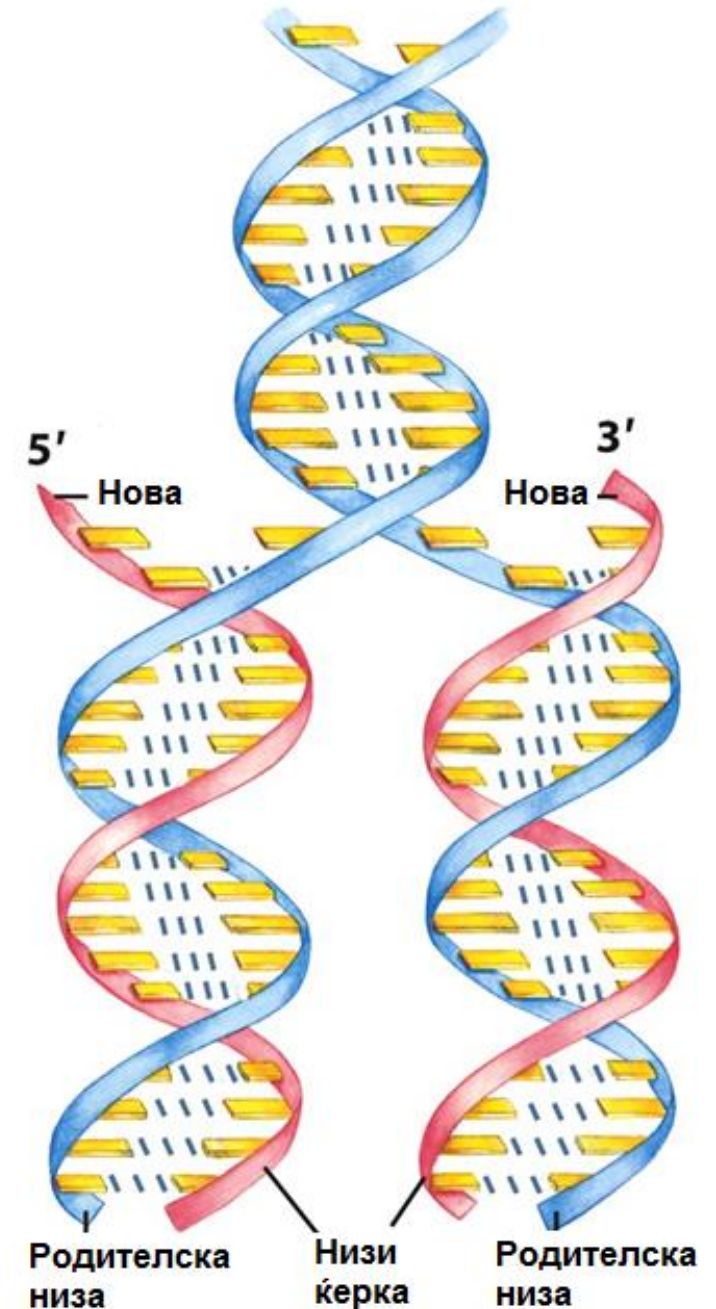
МОДЕЛ НА DNA СПОРЕД ВОТСОН И КРИК

- Вотсон и Крик откриле дека водородното сврзување на паровите бази, односно G со C, и A со T, се случува **во внатрешноста на структурата**.
- **Комплементарноста** на полинуклеотидните низи се должи на **водородните врски** меѓу паровите азотни бази.
- Суштинската карактеристика на ваквиот модел, всушност, е комплементарноста на двете DNA низи.



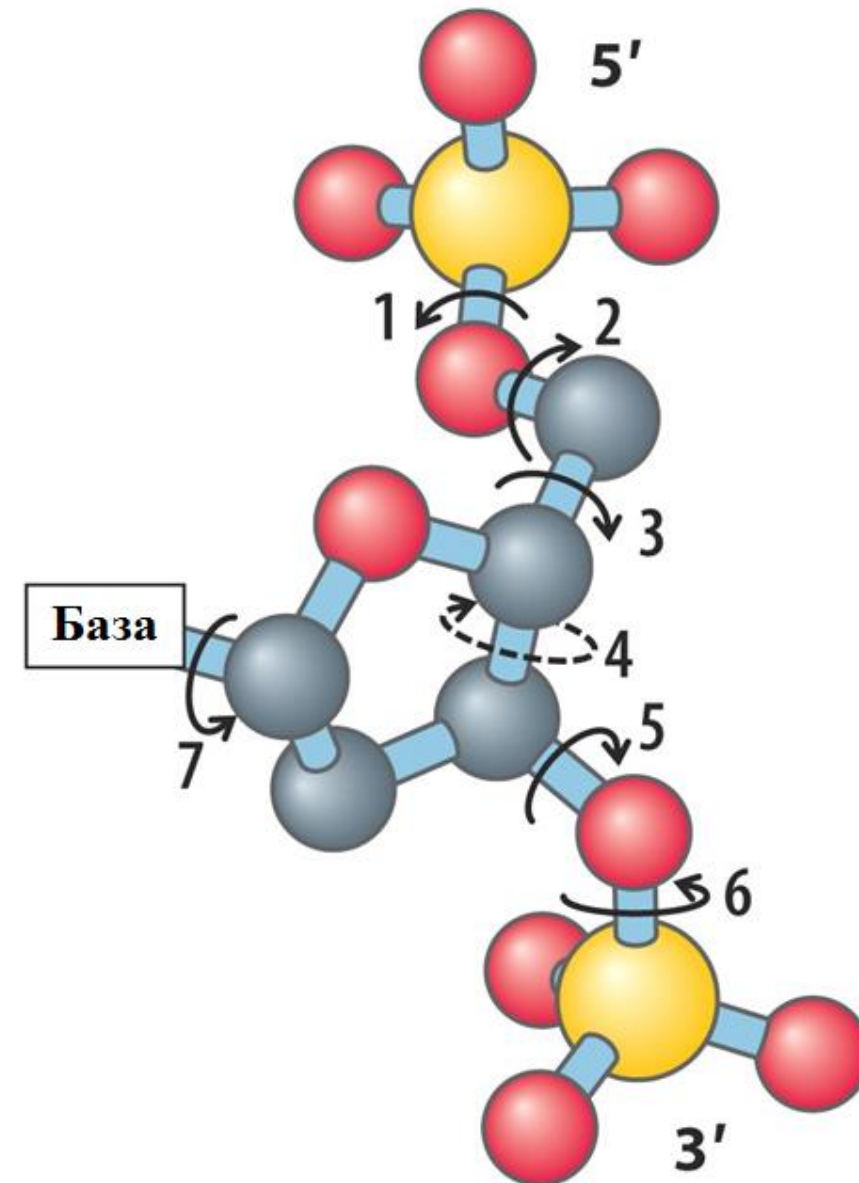
МОДЕЛ НА DNA СПОРЕД ВОТСОН И КРИК

- Овој модел веднаш сугерира **механизам на пренесување на генетската информација**.
- Според Вотсон и Крик, оваа структура **може да се реплицира** со:
 - **разделување на двете низи,**
 - **потоа со синтетизирање на комплементарна низа за секоја од нив.**
- Секоја од разделените “родителски низи” е шаблон според кој понатаму се синтетизира нејзината комплементарна „ќерка“ низа.

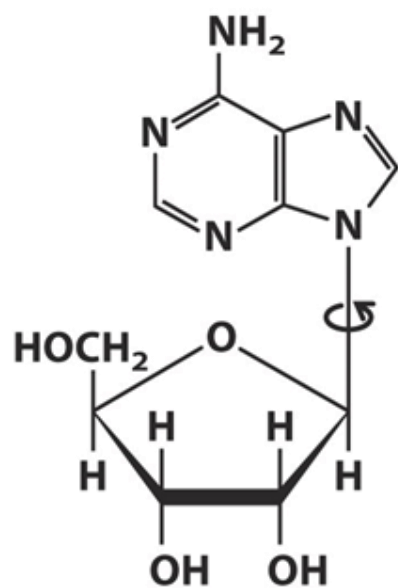


СТРУКТУРНИ ВАРИЈАЦИИ НА DNA

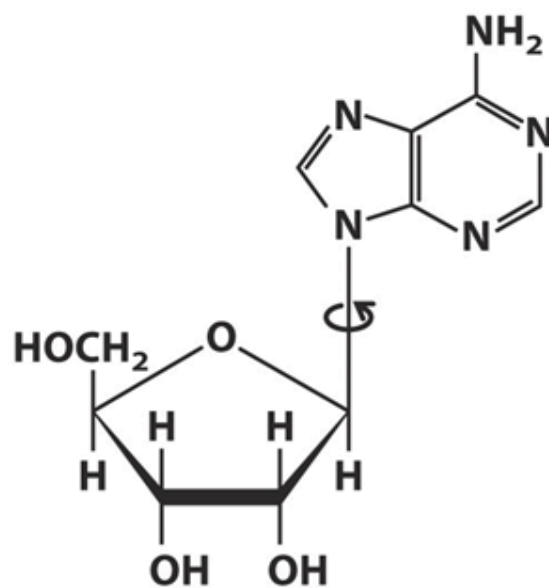
- Структурните варијации на DNA се предизвикани од **неспечената ротација околу единечните C-C, C-O, C-N и O-P врски.**
- Могни се различни конформации на деоксирибозата, ротацијата околу врските коишто го градат фосфо-деоксирибозниот скелет и слободната ротација околу C-1'-N-гликозидната врска.
- Овие структурни отстапувања **не влијаат на клучните својства на DNA:**
 - комплементарноста на низите,
 - антипаралелните низи и
 - барањето паровите бази да бидат $A = T$ и $G \equiv C$.



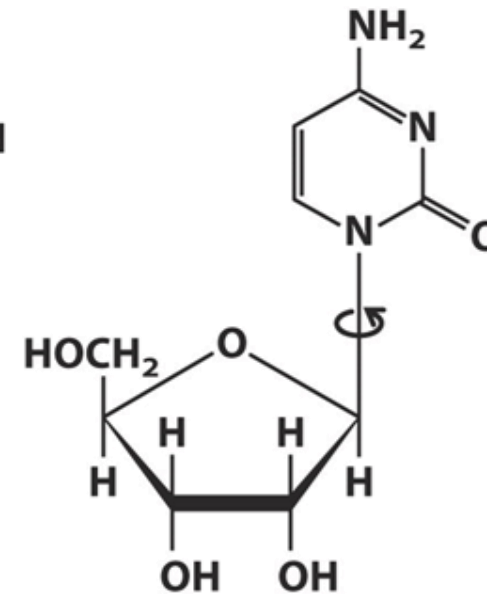
СТРУКТУРНИ ВАРИЈАЦИИ НА DNA



***syn*-Аденозин**



***anti*-Аденозин**

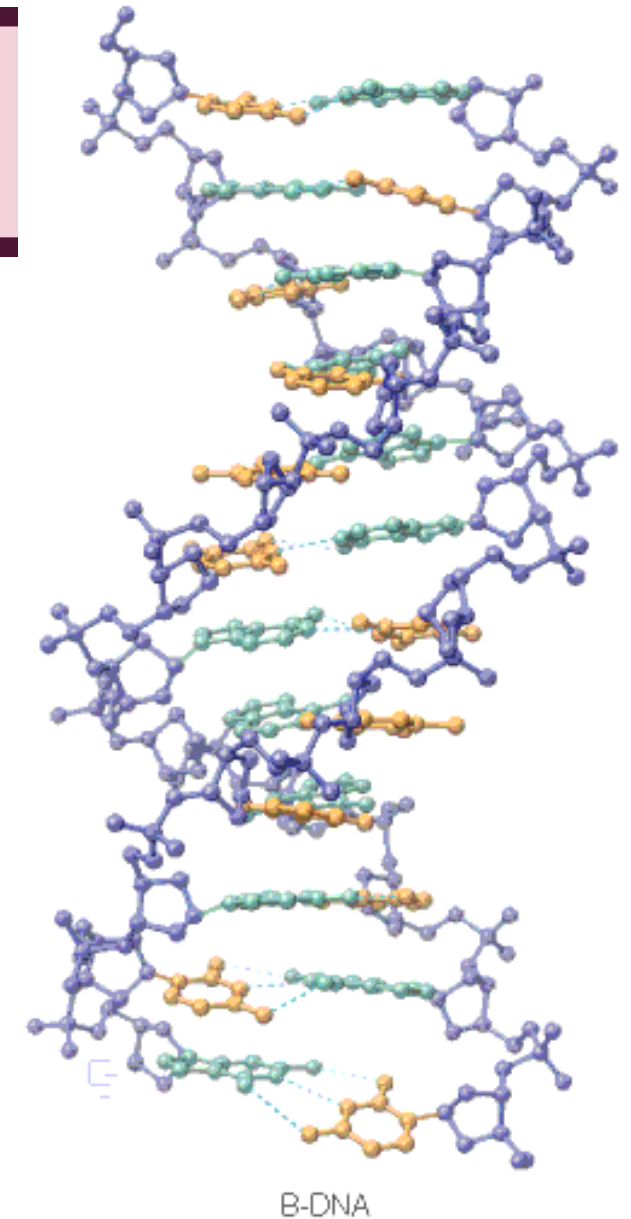


***anti*-Цитидин**

- Поради слободната ротација околу N-гликозидната врска, нуклеозидот постои во две стабилни конформации: ***syn*-** и ***anti*-**.
- За пуринските бази во нуклеотидите, само две конформации се стерно можни: *anti* или *syn*.
- Пиримидините главно се среќаваат во *anti* конформацијата. Причина: стерни пречки помеѓу јаглехидратниот и карбонилниот кислород на C-2 атомот од пиримидинот.

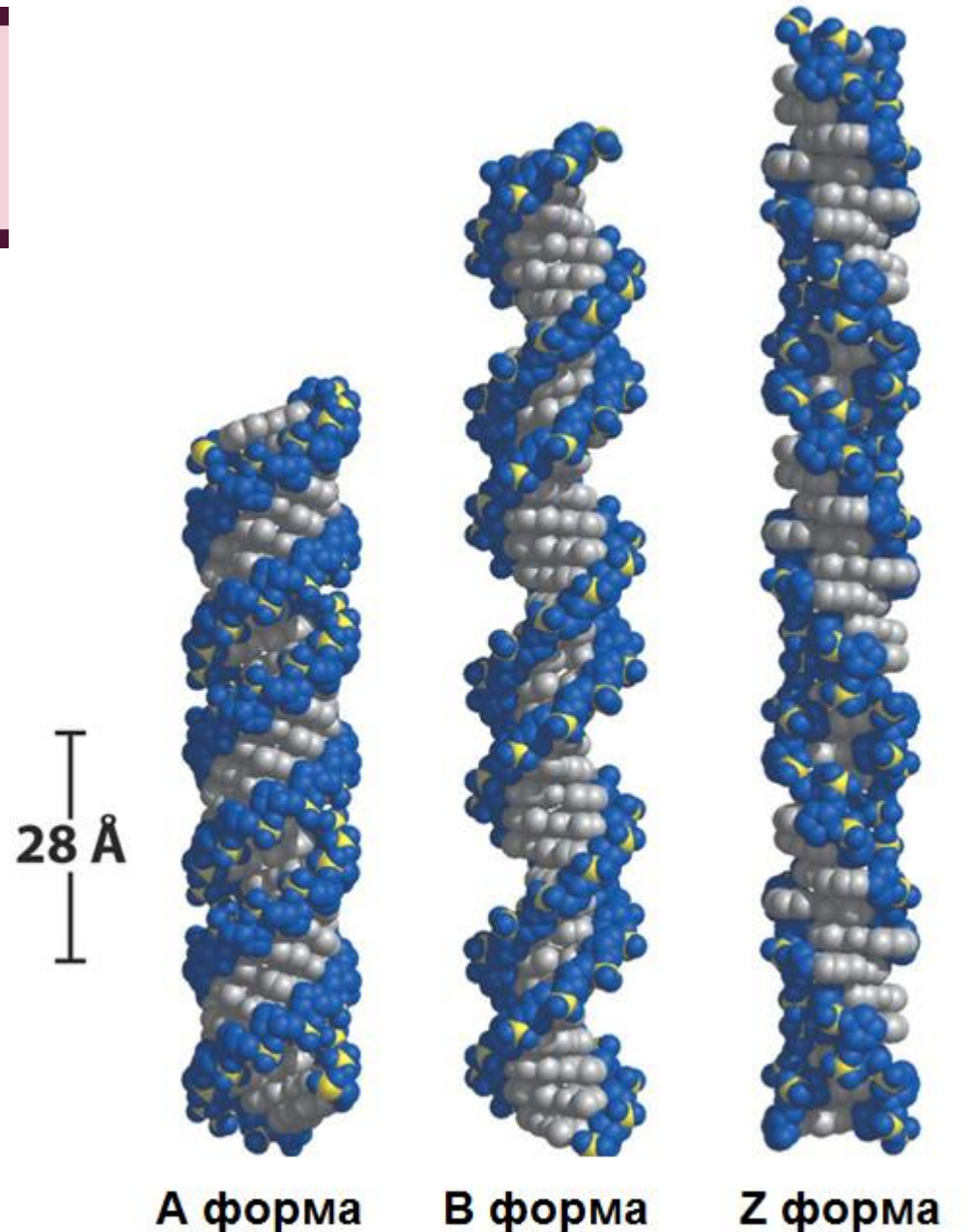
СТРУКТУРНИ ВАРИЈАЦИИ НА DNA: ПОСЛЕДИЦА

- Моделот на Ватсон и Крик се однесува на идеализирана структура на DNA, каде рамнината во која лежат паровите од конјугирани бази е нормална на оската на хеликсот.
- Вистинската структура на DNA се разликува од идеализираниот модел на Ватсон и Крик.
- **Моделот е деформиран:** Секој нареден пар од бази е свртен за определена на вредност на аголот.
- Кај различни типови DNA наклонот на паровите бази нормален на оската на спиралата е различен и претставува специфичен параметар.



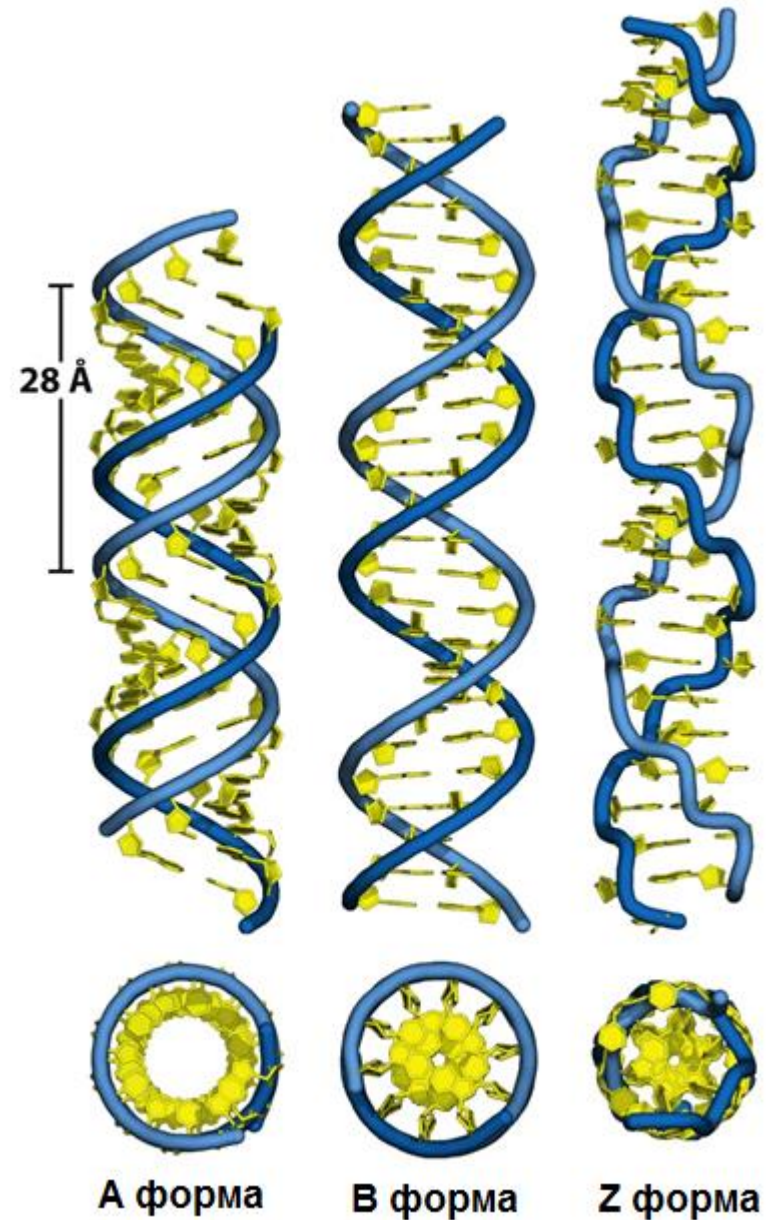
МОДЕЛИ НА РЕАЛНИ СТРУКТУРИ НА DNA

- Структурата на Вотсон и Крик се нарекува **В-форма на DNA** или B-DNA.
- Две структурни варијанти коишто се многу добро определени во кристалните структури се **А и Z формите**.
- А-формата најмногу е присутна во раствори во кои нема присуство на вода. Структурните промени во однос на В-формата, влијаат врз продлабочување на големиот жлеб, а малиот жлеб станува поплиток.
- Најочигледна разлика на Z-формата на DNA е левораката спирална ротација. Структурата е потенка и издолжена, големиот жлеб е едвај видлив, а малиот жлеб е тесен и вдлабнат.

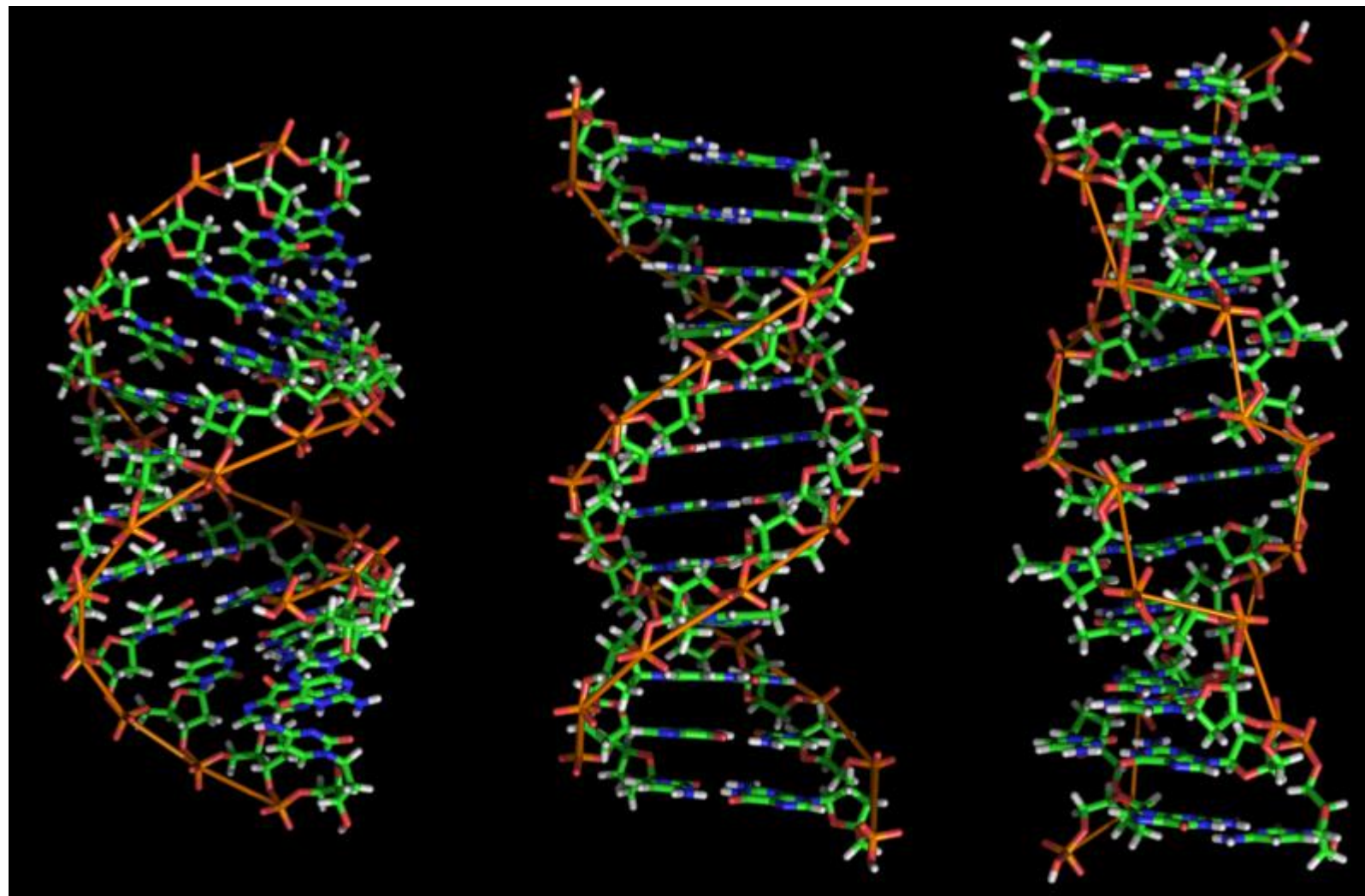


МОДЕЛИ НА РЕАЛНИ СТРУКТУРИ НА DNA

- За да дојде до формирање на левораките спирали во Z-DNA, **пуринските остатоци преминуваат во *syn*-конформација, заменувајќи се со пиримидините кои се наоѓаат во *anti*-конформација.**



Слики во овој фазон, гиф

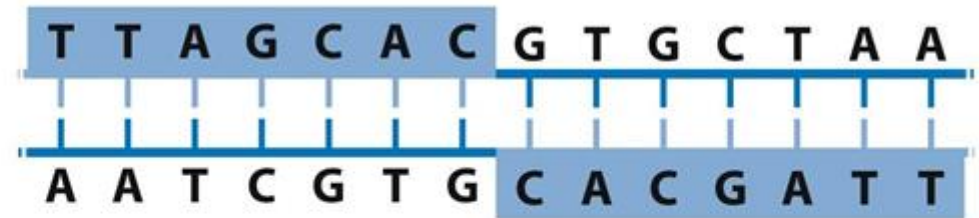


Форма на DNA	A-DNA	B-DNA	Z-DNA
Тип на спирала	деснорака	деснорака	леворака
Дијаметар	26 Å	20 Å	18 Å
Парови бази во еден хеликален завој	11	10,5	12 (димер)
Од на спирала/ нуклеотид	2,6 Å	3,4 Å	3,7 Å
Наклон на паровите бази, нормален на оската на спиралата	20°	6°	7°
Конформација на шеќерот	C-3' endo	C-2' endo	C-2' endo за пиримидини, C-3' endo за пурините
Конформација на N-гликозидната врска	anti	anti	anti за пиримидини, syn за пурини

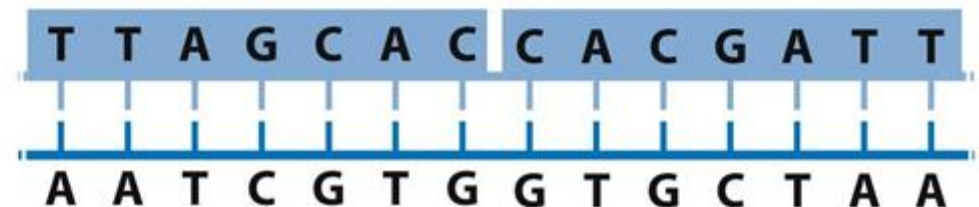
НЕВООБИЧАЕНИ СТРУКТУРИ НА DNA

- Често се среќава секвенцата позната како **ПАЛИНДРОМ**: делови од DNA имаат инверзни периодични повторувања на основната секвенца на двете полинуклеотидни низи и имаат симетрија од втор ред. (самокомплементарност)
- Секвенцата **ОГЛЕДАЛНО ПЕРИОДИЧНО ПОВТОРУВАЊЕ** подразбира дека инверзните периодични повторувања се среќаваат во секоја поединечна низа на DNA.

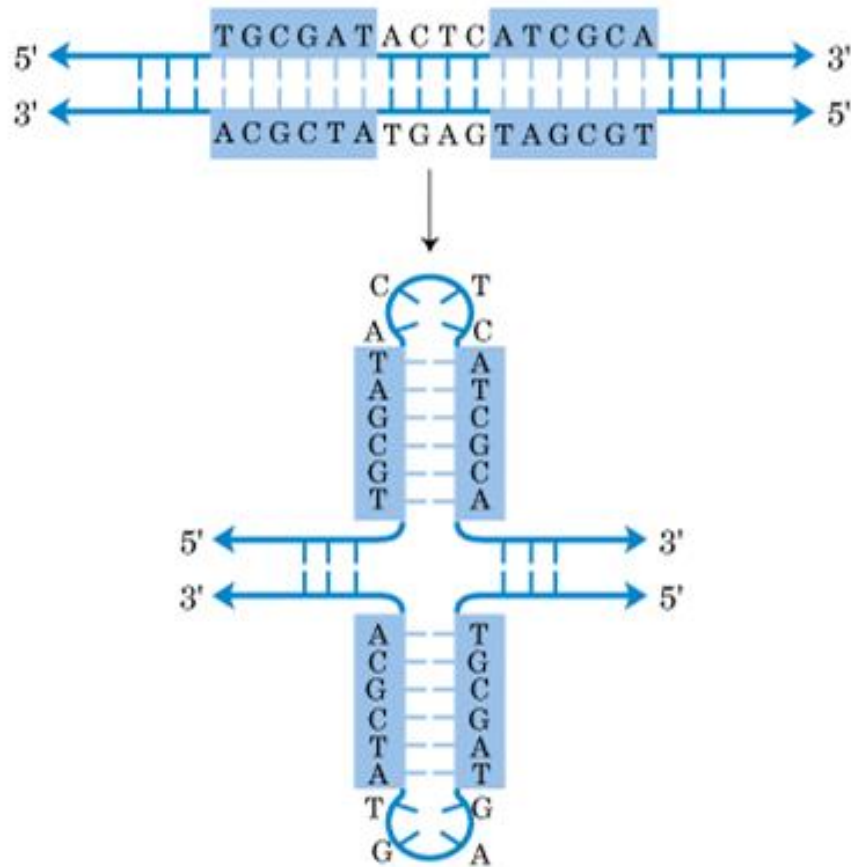
Палиндром



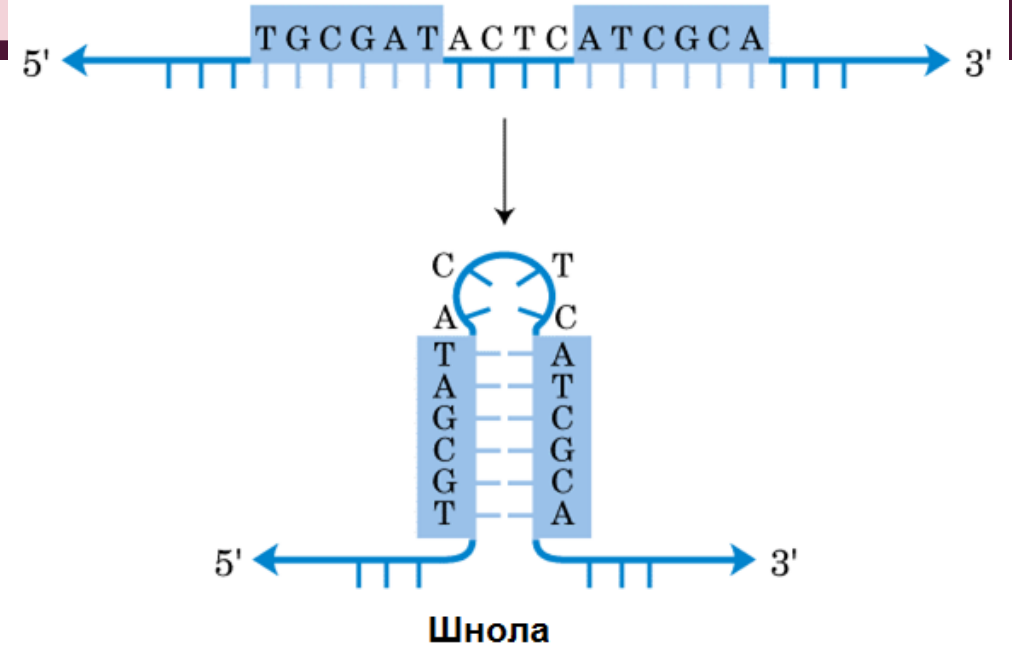
Огледално повторување



НЕВООБИЧАЕНИ СТРУКТУРИ



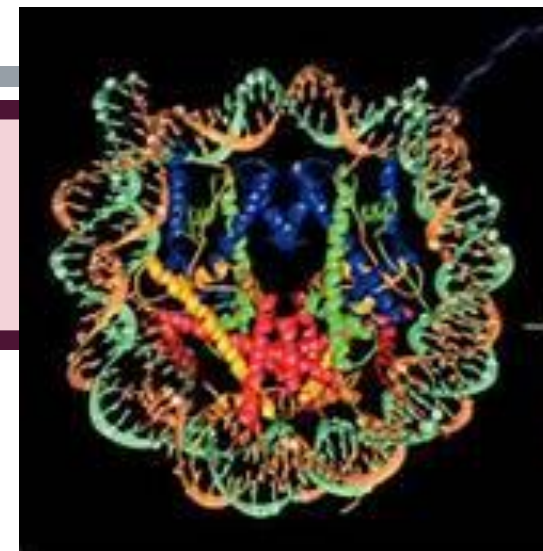
Крстовидна форма



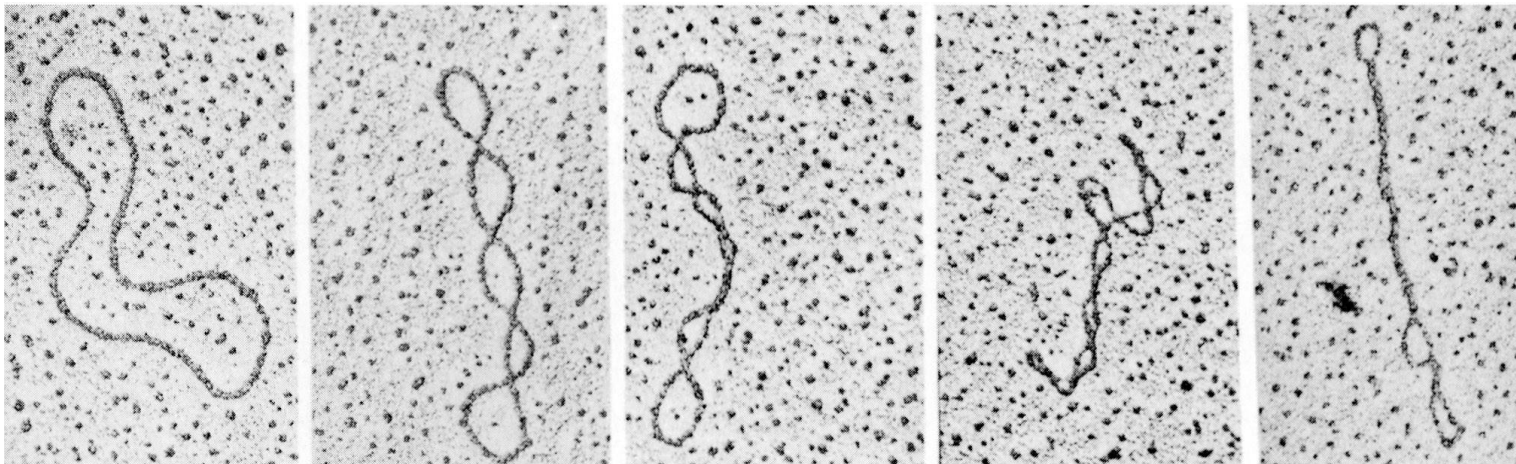
- Секвенците од типот палиндром се самокомплементарни во секоја низа, поради што имаат потенцијал да образуваат невообичаени структури **шноли** и **крстовидни структури**.

ТЕРЦИЈАРНА СТРУКТУРА НА DNA

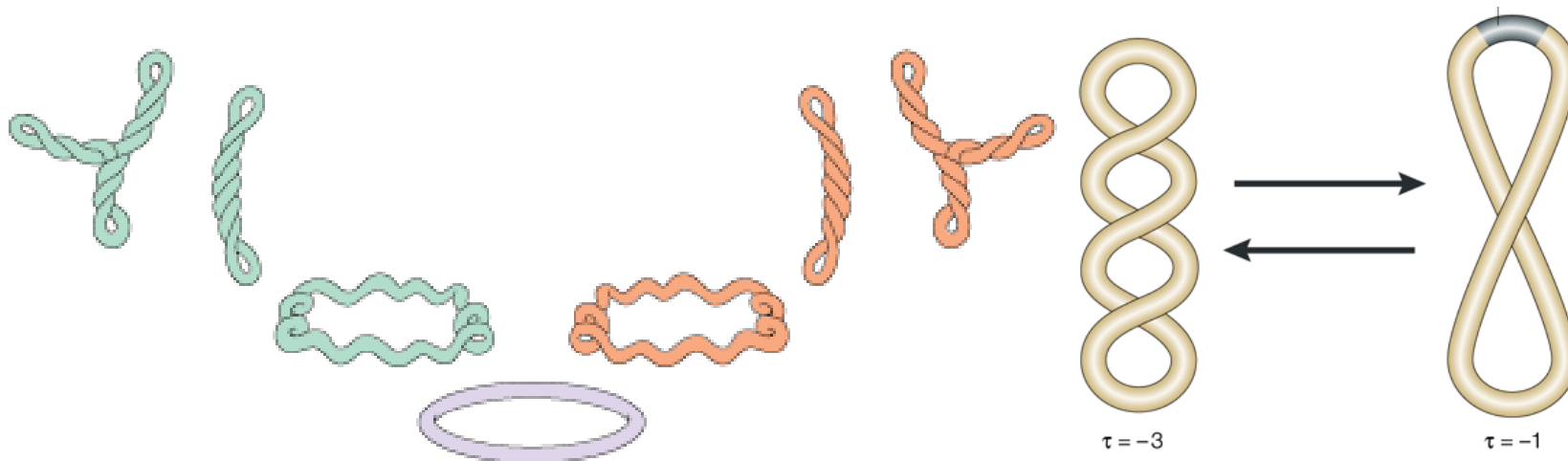
- Имајќи ја предвид **енормната големина на DNA молекулите** од 2 m (со 23 пара хромозоми, секој со по една молекула DNA, со повеќе од 2,9 билиони нуклеотиди, секој пар комплементарни бази во B-DNA придонесува со должина од 3,4 Å), се поставува прашањето **како е спакувана во јадрото на клетката?**
- За споредба, во човековиот организам има 10^{14} клетки, произлегува дека должината на вкупната DNA изнесува 2×10^{11} km, додека на пример оддалеченоста на Земјата од Сонцето е $1,5 \times 10^8$ km.
- Во вирусите, прокариотите и во јадрата на еукариотските клетки, долгата молекула од DNA е густо “спакувана” градејќи сложени структури.
- Таа може да биде **линеарна, во форма на тркало (прстен) т.н. циркуларна DNA**, во форма на **клопче** и т.н.
- Исто така, таа може да биде едноспирална или двоспирална, во **форма на двојна спирала односно суперспирала**.
- Суперспирализацијата претставува внатрешна карактеристика на терцијарната структура на DNA.



ТЕРЦИЈАРНА СТРУКТУРА НА DNA



- Кога двете полинуклеотидни низи во молекулата на DNA ќе формираат ковалентна пртсенеста структура, се образува циркуларна DNA со двоен хеликс.
- Суперспирализацијата на двоверижната DNA се објаснува преку нејзиното тополошко својство – **сврзувачки број**.
- Со расплетување или засукување на релаксираната DNA за одреден број свиоци, настанува негативно или позитивно суперспирализирање во однос на замислената оска.





РИБОНУКЛЕИНСКИ КИСЕЛИНИ

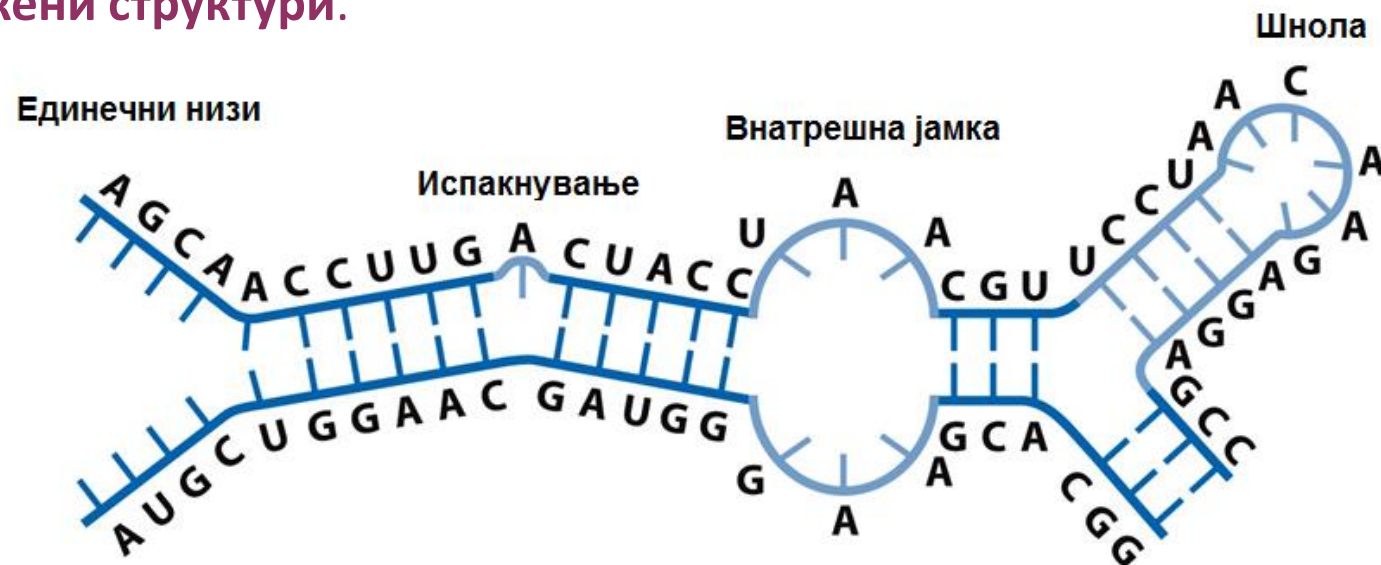


РИБОНУКЛЕИНСКИ КИСЕЛИНИ

- DNA на еукариотите е сконцентрирана во јадрото, а синтезата на протеините се одвива на рибозомите во цитоплазмата.
- Уште во раните 1950-ти години се сметало дека постои некоја друга молекула што ја пренесува генетската порака од јадрото до цитоплазмата, молекулата на RNA.
- RNA е пронајдена и **во јадрото (4-10%) и во цитоплазмата** на клетките на живите организми.
- Сите RNA молекули се добиени од информацијата која е трајно складирана во DNA.
- Разлики **во однос на составот со DNA**:
 - Шеќерната компонента е **рибофураноза**
 - Наместо пиримидинската база тимин (DNA), RNA содржи **урацил**.

СТРУКТУРА НА РИБОНУКЛЕИНСКИ КИСЕЛИНИ

- RNA има само **една полинуклеотидна низа**. Единечната низа има тенденција да заземе **деснорака спирална конформација**.
- RNA може базно да се спарува со комплементарните делови било на RNA или на DNA.
- Секоја самокомплементарна секвенца во молекулата може да образува **посложени структури**.

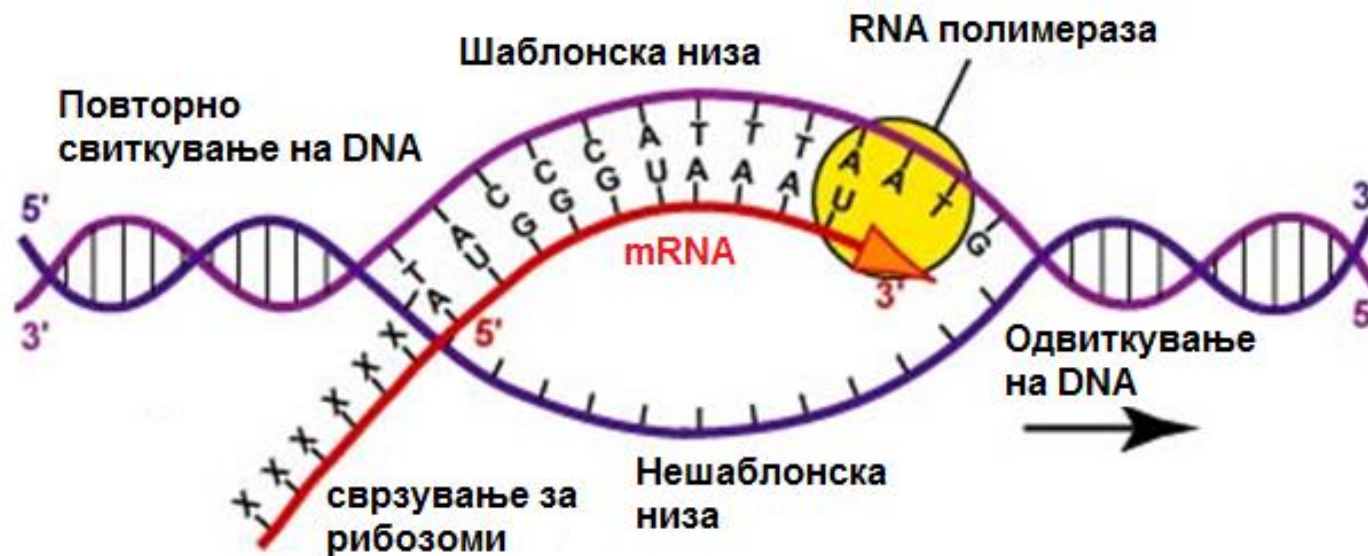


ВИДОВИ НА РИБОНУКЛЕИНСКИ КИСЕЛИНИ

- **Според функцијата** разликуваме три основни видови на рибонуклеински киселини:
 - информациона или месинџер-гласничка RNA (iRNA или mRNA),
 - транспортна RNA (tRNA) и
 - рибозомна RNA (rRNA).

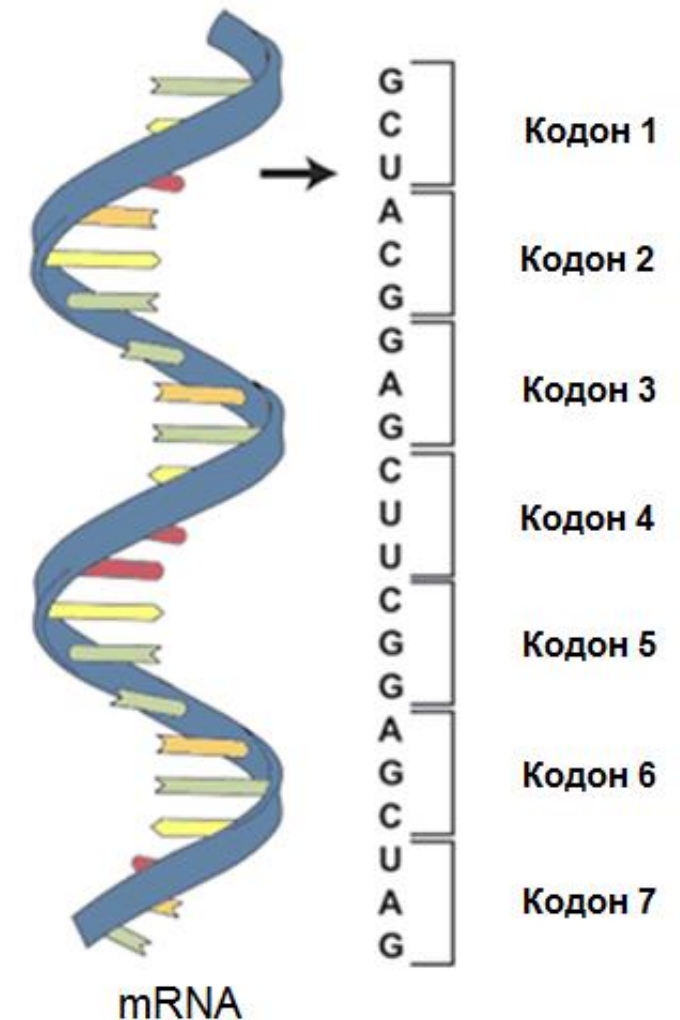
ИНФОРМАЦИОНА RNA (mRNA)

- Оној дел од целокупната клеточна RNA што ја пренесува генетската информација од DNA до **рибозомите**, каде ја кодира аминокиселинската секвенца на еден или повеќе полипептиди со помош на одреден ген или сет на гени се нарекува **информациона RNA (mRNA)** или гласничка, месинџер.
- Нејзината секвенца е копија од DNA, која се образува во процесот **транскрипција**.



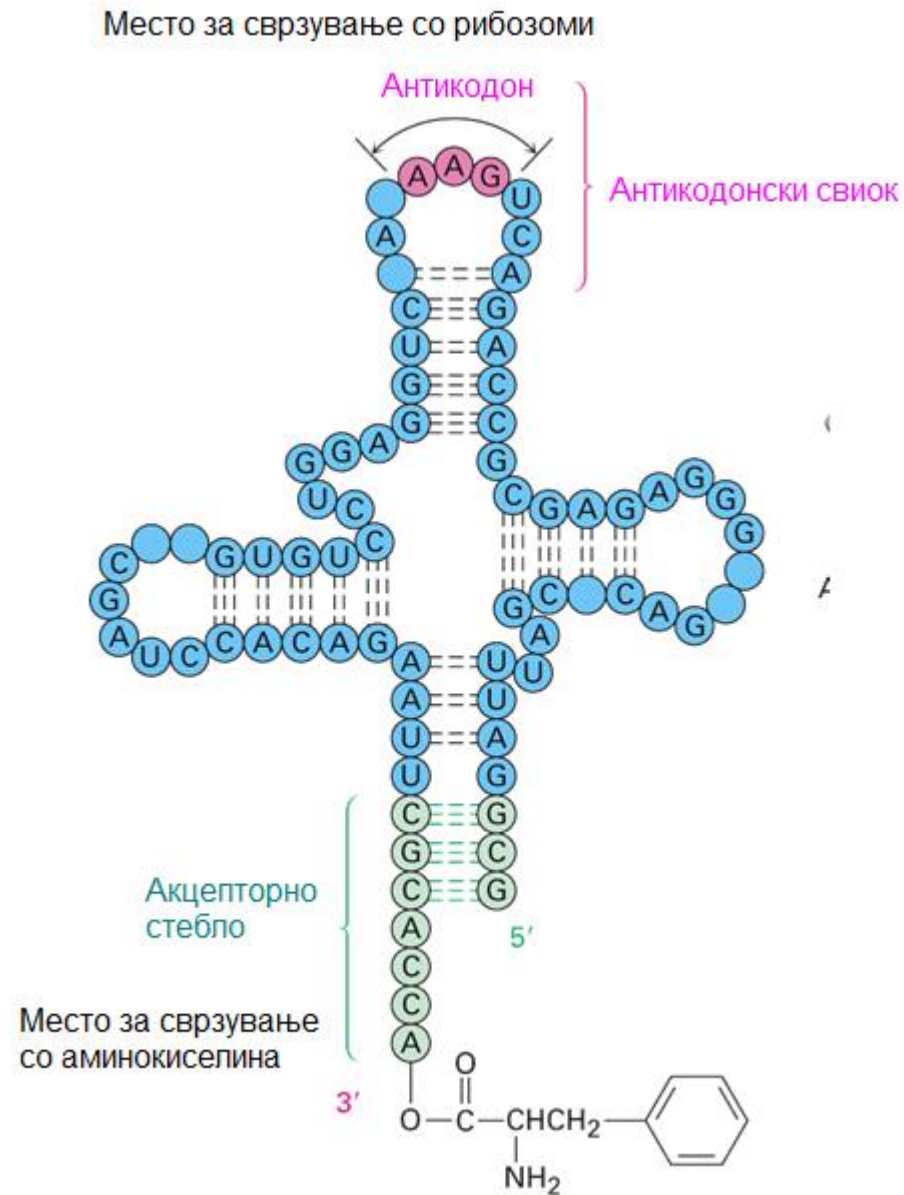
ИНФОРМАЦИОНА RNA (mRNA)

- За синтеза на низата на RNA која е комплементарна на една од двете DNA низи во двојната спирала, **DNA молекулата привремено се одвиткува**. Во овој регион се гради хибридна RNA-DNA двојна спирала (околу 8 парови бази), од кој RNA брзо се одвојува.
- Постојат различни типови од mRNA коишто се разликуваат помеѓу себе по молекулската маса и редоследот на нуклеотидите. Најмалата должина на една mRNA е дефинирана со должината на полипептидната низа којашто ја кодира.
- За синтеза на полипептидна низа од 100 аминокиселински остатоци, потребна е кодирачка секвенца на RNA од најмалку 300 нуклеотиди. Тоа е така затоа што **секоја аминокиселина е кодирана од нуклеотиден триплет**.
- Триплетот од бази се нарекува **кодон**.
- За синтезата на секој протеин постои посебна mRNA.



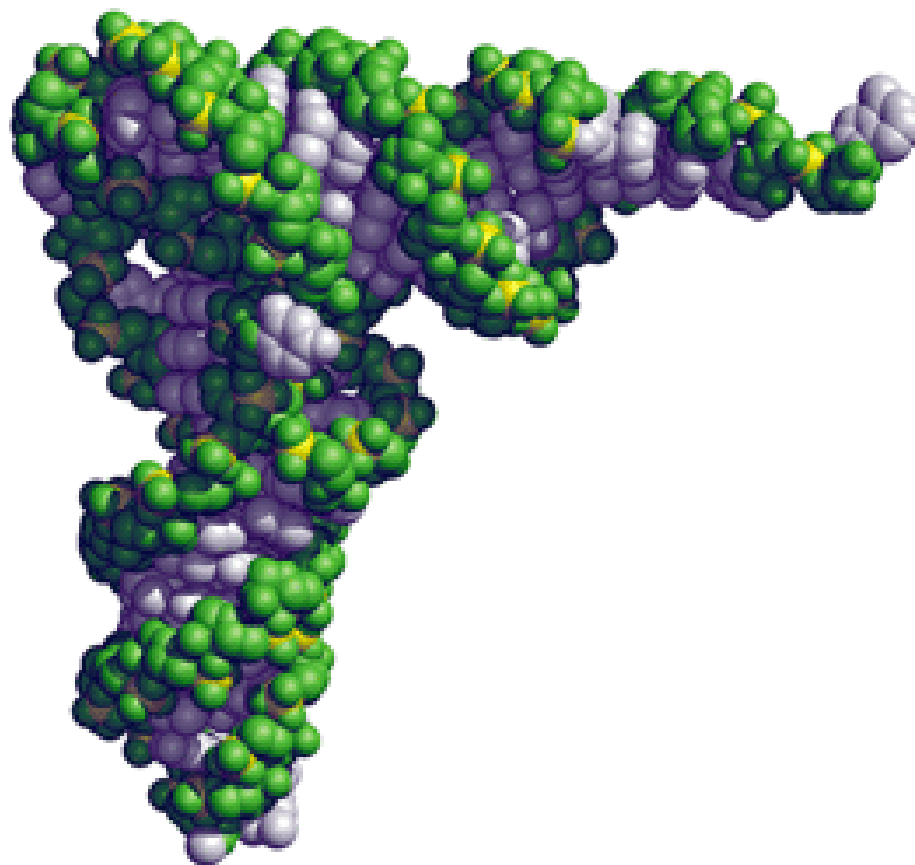
ТРАНСПОРТНА RNA (tRNA)

- Транспортната RNA ја **чита информацијата за синтеза** на една или повеќе полипептидни секвенци, кодирана во mRNA, и **ги пренесува активираните аминокиселини** во рибозомите до определени места на полипептидната низа која расте за време на синтеза на протеините.
- За секоја аминокиселина има **специфична tRNA**.
- Транспортната RNA има **сложена структура** којашто наликува на лист од детелина:
- Се состои од 70-100 рибонуклеотиди, сврзана за специфичната аминокиселина со естерска врска преку слободната –OH на 3' крајот.
- Во средината содржи сегмент - **антикодон**, секвенца од три рибонуклеотиди комплементарни на кодонот од mRNA.



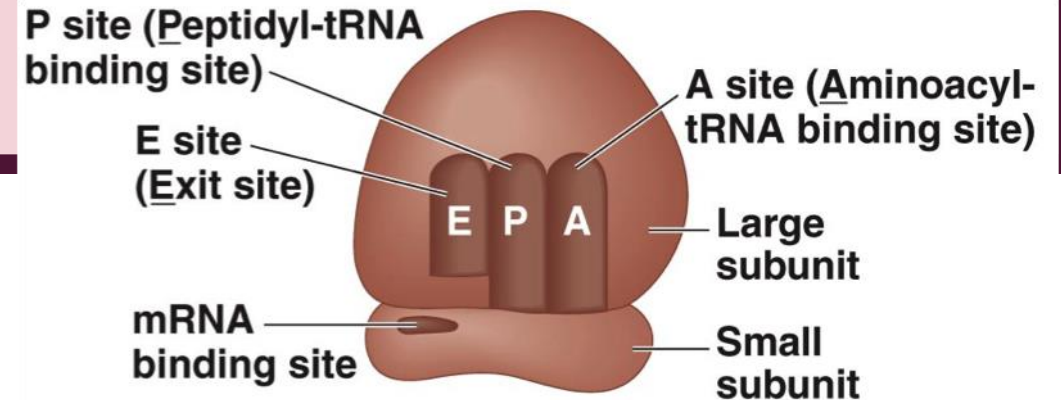
ТЕРЦИЈАРНА СТРУКТУРА НА tRNA

- Фенилаланин tRNA

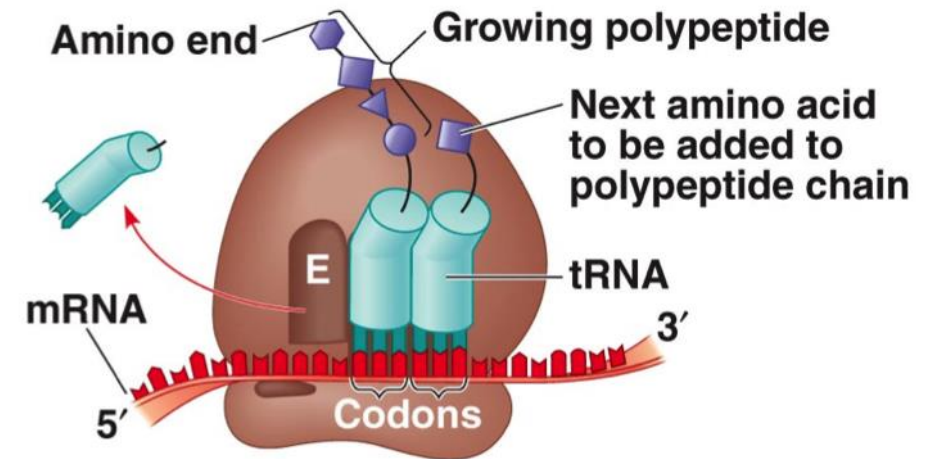


РИБОЗОМНА RNA (rRNA)

- Рибозомните RNA молекули се **составен дел на рибозомите** (сложени клеточни комплекси на протеини и rRNA - **нуклеопротеини**).
- Тука се **одвива синтезата на протеини** од аминокиселини и ATP.
- Двете поединици изградени од RNA и протеини (мала со 30S и голема со 50 S) се поврзуваат во 70S единица на рибозомот подготвен за процесот на транслација.
- Знакот S е мерка за брзината на седиментација при центрифугирање, која вообичаено се користи кај големите молекули наместо мерка за маза.
- Рибозомната RNA има двојна улога: структурна и каталитичка (рибозими со ензимска активност).



(b) Schematic model showing binding sites



(c) Schematic model with mRNA and tRNA

СТРУКТУРА НА РИБОЗОМ

- Градба на нуклеопротеин: рибозом
- **Протеините** се обоено со виолетова боја,
- **23S rRNA** со портокалово и бела и **5S rRNA** со бургунди црвена и бела,
- **А (аминоацил)-tRNA** со зелена и **растечката пептидна низа P- tRNA** со црвена боја.

