

БИОМОЛЕКУЛИ

НУКЛЕИНСКИ КИСЕЛИНИ. I ДЕЛ

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

ЗОШТО ОВАА ГЛАВА?

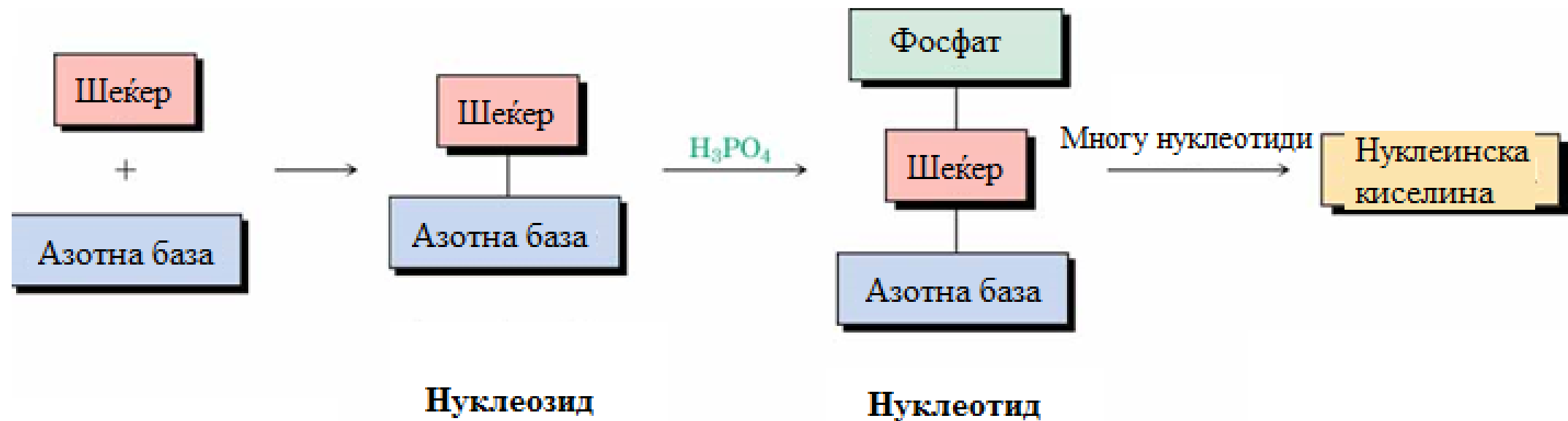
- Складирањето и пренесувањето на генетските информации од генерација на генерација од страна на нуклеинските киселини, се **услов за продолжување на животот**.
- Запознавање со структурата на нуклеотидите
- Изучување на структурата на DNA (двојна спирала)
- Рибонуклеински киселини и нивна структура
- Физичко-хемиски својства на нуклеинските киселини
- Воведување во хемиските методи за DNA секвенционирање и синтеза
- Биолошка функција на нуклеинските киселини: како протеините се сврзуваат за DNA?



НУКЛЕОЗИДИ И НУКЛЕОТИДИ



НУКЛЕОТИДИ СЕ...



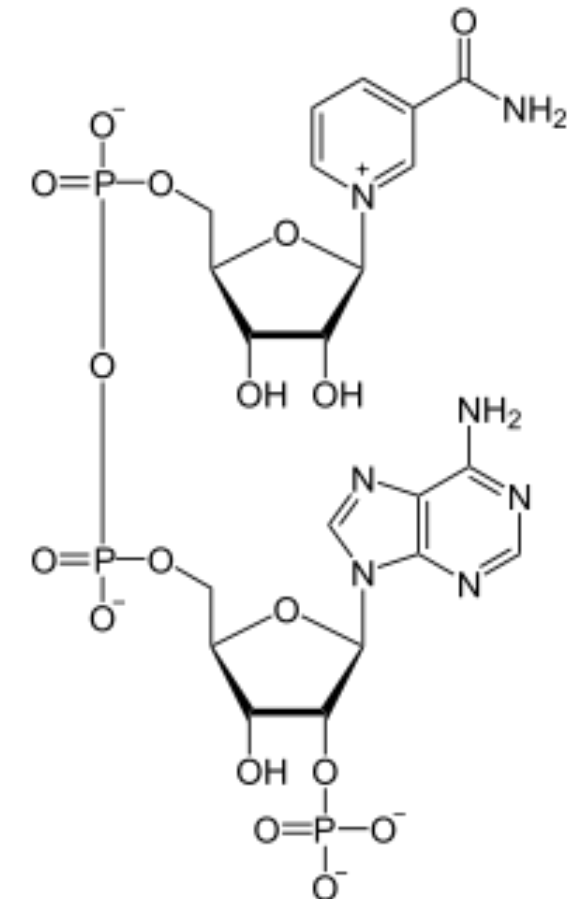
- **Нуклеотид** претставува мономер од кој се изградени биополимерите - **нуклеински киселини**.
- Нуклеотидот е изграден од шеќерна компонента, азотна органска база и фосфорна киселина.
- Алдопентозата е *N*- β -гликозидно сврзана за органската азотна база (пуринска или пиримидинска), а со фосфорната киселина е сврзана преку естерска врска.

БИОЛОШКА ФУНКЦИЈА НА НУКЛЕОТИДИТЕ

- Карактеристични функции на нуклеотидите:
 - Ја обезбедуваат потребната енергија за метаболичките процеси (ATP, GTP, CTP, UTP)
 - Пренесуваат сигнали (cAMP, cGMP) како клеточен одговор на влијанието на хормоните и екстрацелуларните течности
 - Претствуваат ензимски кофактори (NAD⁺, NADP⁺, FAD)
 - Дериватите на нуклеотидите учествуваат во метаболичките процеси како агенси за фосфорилирање, метилирање,....



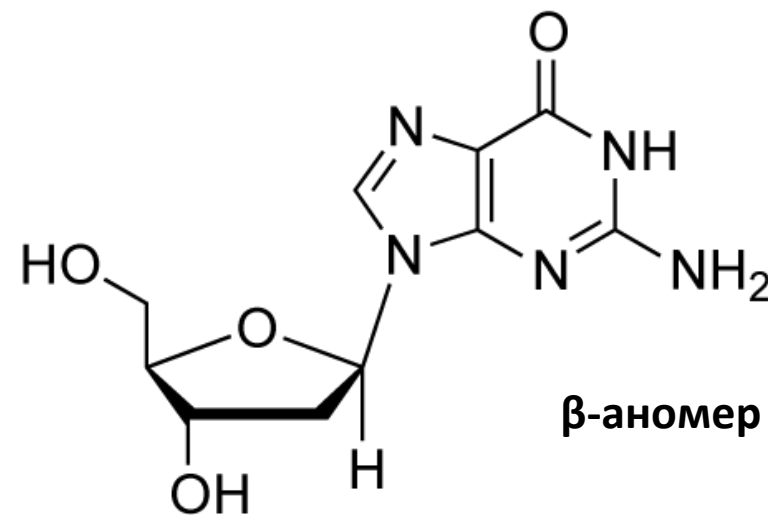
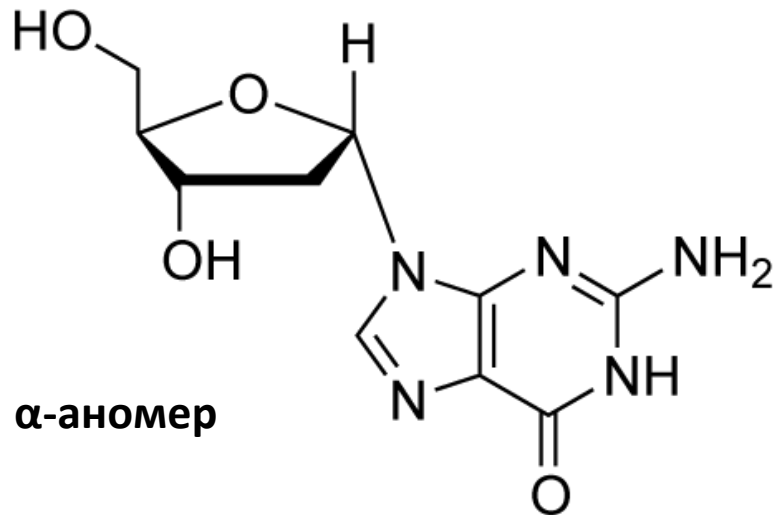
S-аденозилметионин



NADP⁺

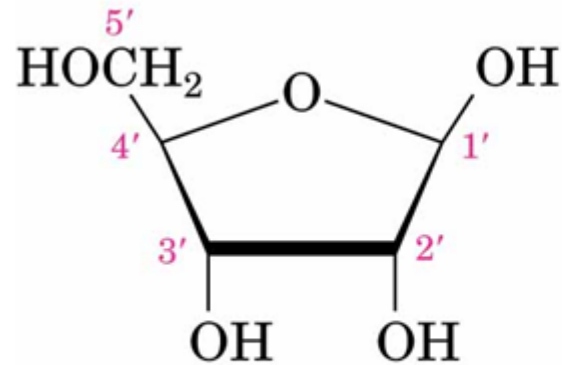
Никотинамид динуклеотид фосфат

НУКЛЕОЗИДИ СЕ...

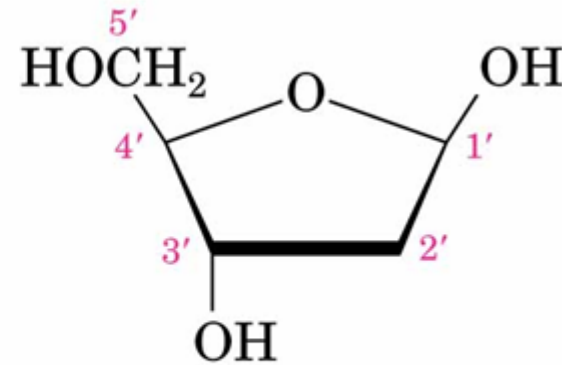


- **Нуклеозидите се гликозиламини**, кои може да се сметаат за нуклеотиди без фосфатна група. Нуклеозидите се составени од **азотна база и пентоза, поврзани со *N*-β-гликозидна врска**.
- *N*-β-гликозидна врска е ковалентна врска која се образува меѓу хемиацеталната група од јаглехидратот (рибоза или деоксирибоза) и аминскиот азот од органската база.
- Потсетување: кај β-аномерот во Haworth-овите проекциони формули на D-јаглехидратите, хемиацеталната –ОН група се црта над рамнината на прстенот (фураноза) и се наоѓа од иста страна на рамнината со најодалечениот C-5' атом.

ШЕЌЕРНА КОМПОНЕНТА



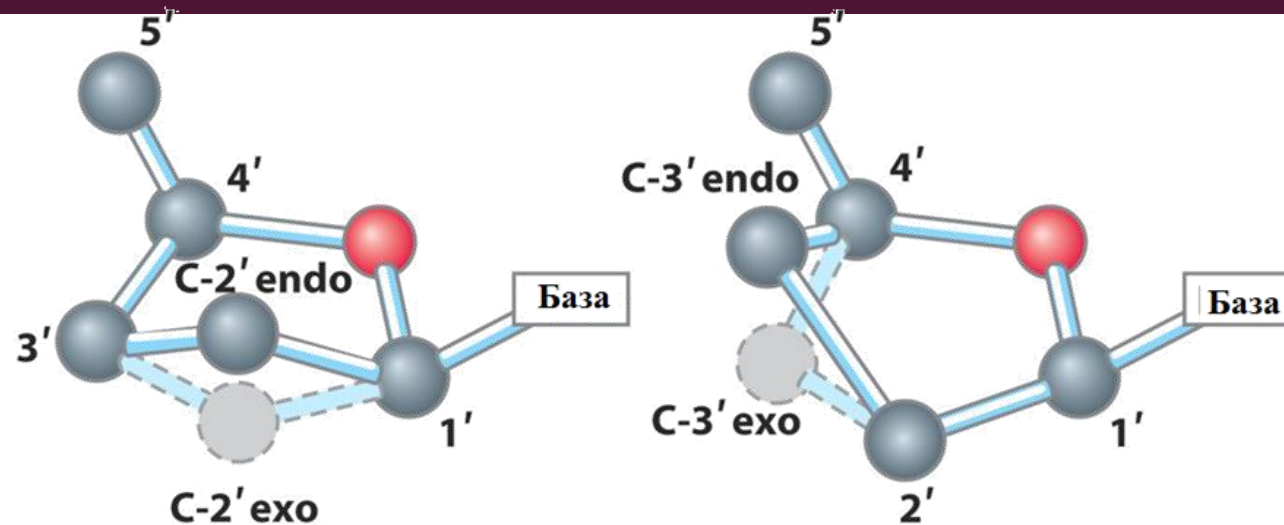
Рибоза



2'-деоксирибоза

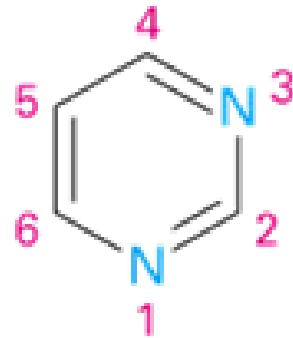
- **Алдопентози во фуранозен облик:**
 - **Рибоза** – шеќерна компонента на RNA.
 - **2'-деоксирибоза** – шеќерна компонента на DNA.
- Пентозата го определува идентитетот на нуклеинската киселина.
- Кај нуклеинските киселини, при нумерирање на C-атомите од алдопентозата се додава ' (се прави разлика со нумерирањето на положбите во азотната база).

ЈАГЛЕХИДРАТИ ВО НУКЛЕИНСКИТЕ КИСЕЛИНИ

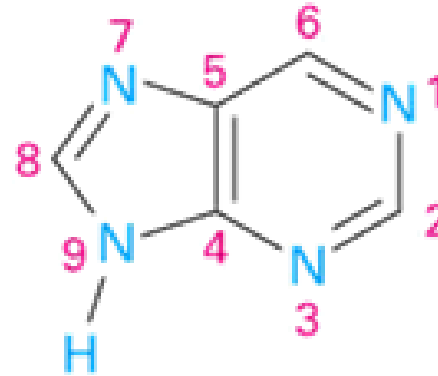


- Фуранозниот прстен не е планарен, туку постојат неколку **конформации на плик**: 4 атоми се во рамнина, а еден од атомите е над или под рамнина.
- Најважни се двете конформации во кои C-2' и C-3' атомите се надвор од рамнина.
- Се прави споредба помеѓу просторната ориентација на атомот што не е во рамнина (C-2' и C-3') и просторната ориентација на C-5':
 - Ако се **од истата страна на рамнината** – *endo*- (ендо)
 - Ако се **од спротивна страна на рамнината** – *exo*- (егзо)

АЗОТНИ БАЗИ



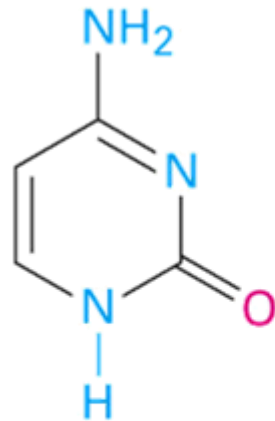
Пиримидин



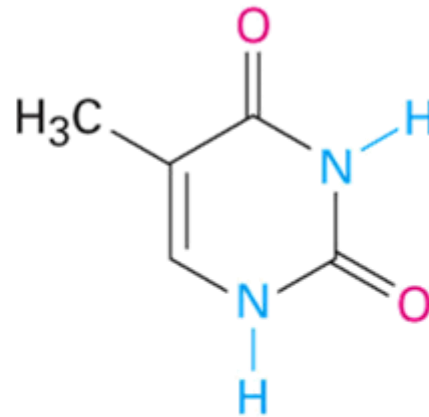
Пурин

- Имаат **слабо базни својства** и **ароматичен карактер**, апсорбираат **UV** светлина.
- **Пиримидин** е органско соединение со шестчлен ароматичен прстен кој има два атоми на азот (пиридински)
- **Пурин** е ароматично соединение со два кондензирани прстени: пиримидин и имидазол. Има 4 атоми на азот, од кои еден е пиролов (N-9).
- **Начин на нумерирање на хетероциклични соединенија**, со еден прстен, со два фузирани, со еден хетероатом, со повеќе хетероатоми (Прочитај!).

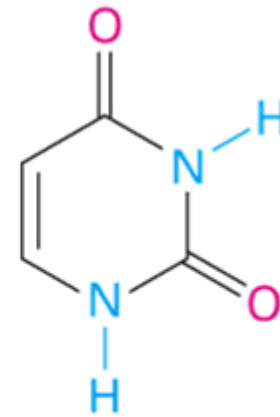
ПИРИМИДИНСКИ БАЗИ



Цитозин (C)
DNA, RNA



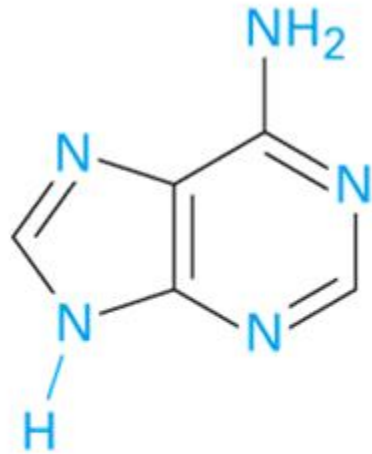
Тимин (T)
DNA



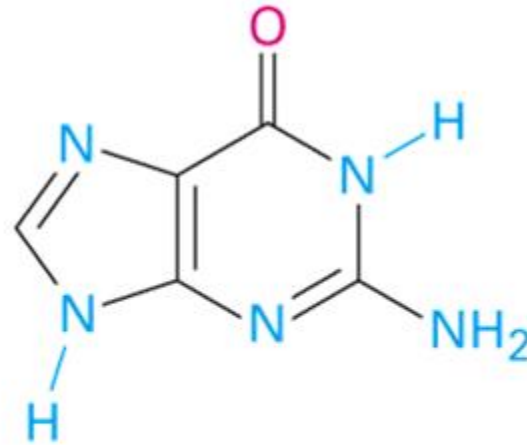
Урацил (U)
RNA

- **DNA:** цитозин (C) и тимин (T).
- **RNA:** цитозин (C) и урацил (U).
- **За полесно паметење:** Цитозин е 2-кето, 4-амино пиримидин;
- урацил е 2,4-дикето пиримидин,
- тимин има слична структура со урацил и дополнителна метил група во положба C-5.

ПУРИНСКИ БАЗИ



Аденин (A)
DNA, RNA

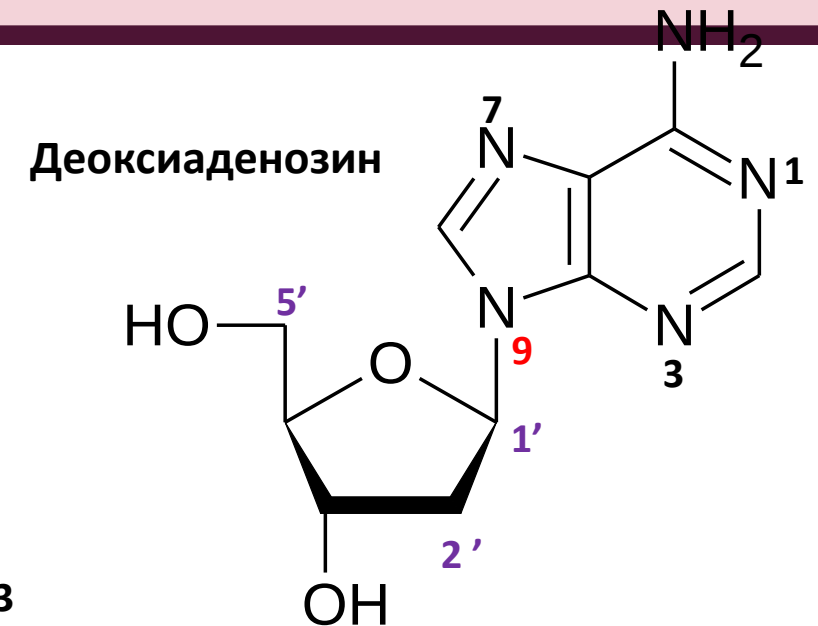


Гванин (G)
DNA, RNA

- Стратегија за паметење на структурите:
- Аденин е 6-амино пурин
- Гванин е 2-амино, 6-кето пурин.

НУКЛЕОЗИДИ

- **Нуклеозиди:** шеќерната компонента преку аномерниот атом на јаглерод C-1' во β -конфигурација е *N*-гликозидно сврзана врска за N-атомот од азотната база:
 - Во положба N-1 кај пиримидинските бази и
 - Во положба N-9 кај пуринските бази.
- **Деооксирибонуклеозиди**
- **Рибонуклеозиди**

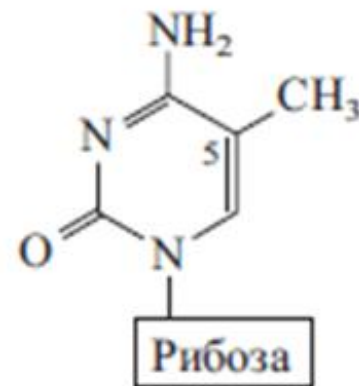


НОМЕНКЛАТУРА НА НУКЛЕОЗИДИ

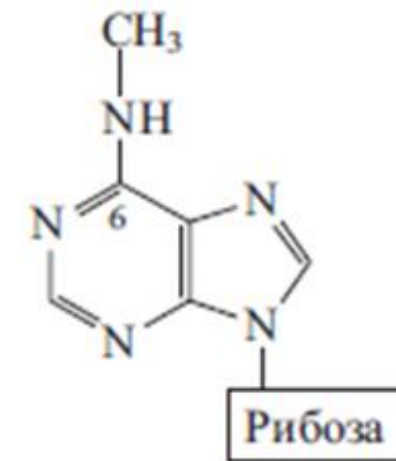
- Нуклеозидите во кои учествуваат **пиримидински бази** се именуваат со додавање на наставката-**ИДИН** кон основата на името на базата. (**урацил** - **ацил** + **идин** = **уридин**)
- Во нуклеозидите во кои учествуваат **пуринските бази**, имињата се образуваат од основата на името на базата и наставката **-ОЗИН**. (**гванин** – **ин** + **озин** = **гванозин**)

НУКЛЕОЗИДНИ ФОРМИ НА ПОМАЛКУ ЗАСТАПЕНИ АЗОТНИ БАЗИ

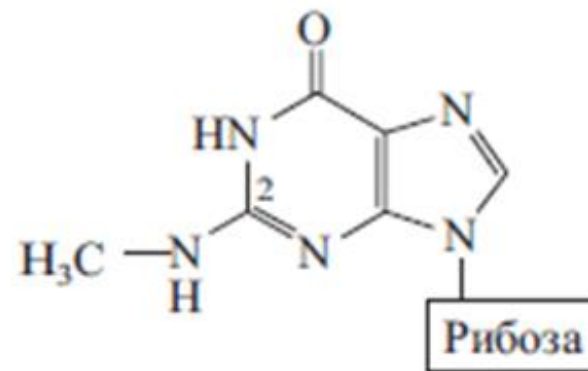
- Помалку застапени бази во DNA:
 - 5-Метилцитидин се среќава во DNA на животните и вишите растенија,
 - N^6 -метиладенозин во бактериската DNA
 - 5-хидроксиметилцитидин во DNA на инфицираните бактерии со бактериофаги
- Улога: *изменетите или невообичаените бази во DNA молекулите ги регулираат или ги заштитуваат генетските информации.*
- Номенклатура:
 - При супституција на атом во пуринскиот или пиримидинскиот прстен, **местоположбата на супституенот се означува со број** (пр. 5-метилцитозин).



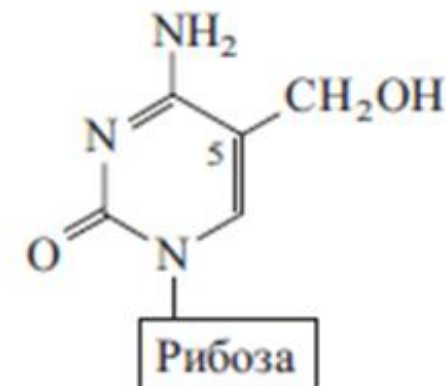
5-Метилцитидин



N^6 -Метиладенозин



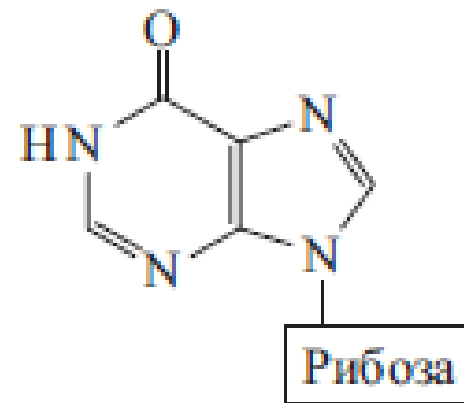
N^2 -Метилгванозин



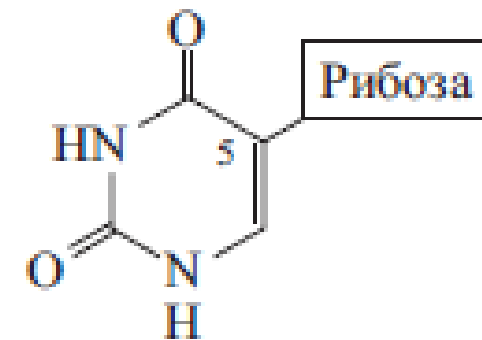
5-Хидроксиметилцитидин

НУКЛЕОЗИДНИ ФОРМИ НА ПОМАЛКУ ЗАСТАПЕНИ АЗОТНИ БАЗИ

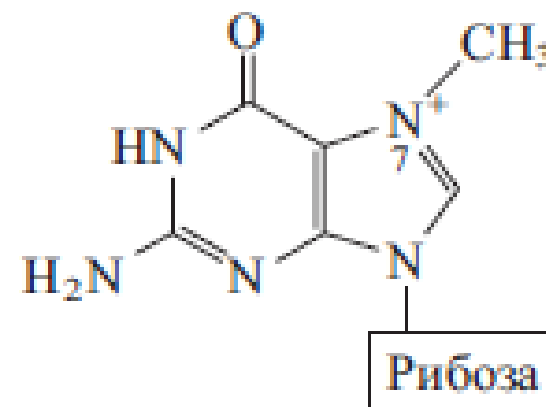
- Помалку застапени бази во tRNA:
 - Базата хипоксантин се содржи во нуклеозидот инозин.
 - Псевдоуридинот се разликува од уридинот во поврзувањето на урацил со рибозата: псевдоуридинот се поврзува преку C-5 атомот.
- Номенклатура:
- Кога **супституираниот атом е егзоцикличен** (надвор од прстенестата структура), се идентификува типот на атомот, а **местоположбата на атомот во прстенот за која е тој поврзан се означува со горен индекс.**
- Азотот од амино групата којшто е поврзан со C-6 атомот од аденинот се означува како N^6 .



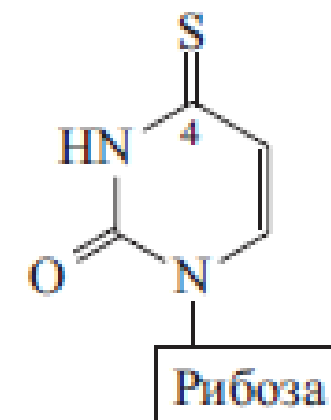
Инозин



Псевдоуридин



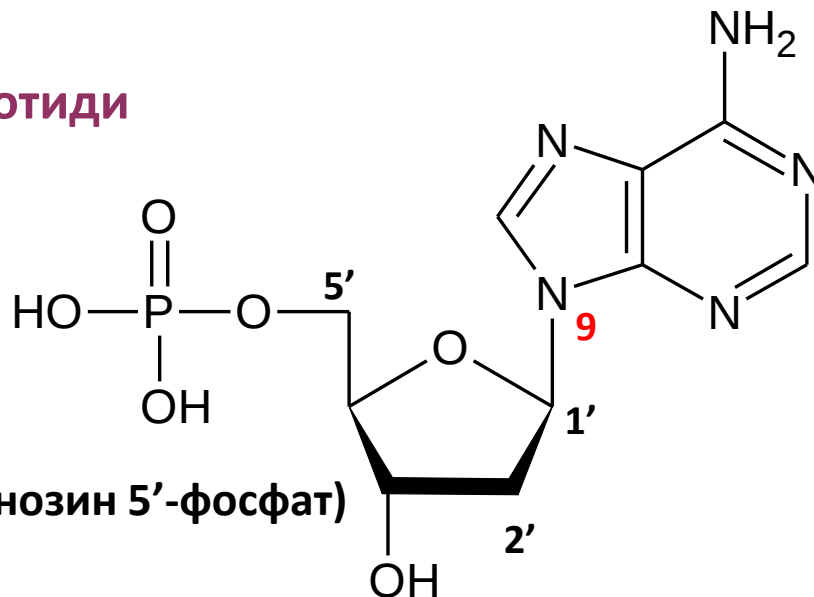
7-Метилгванозин



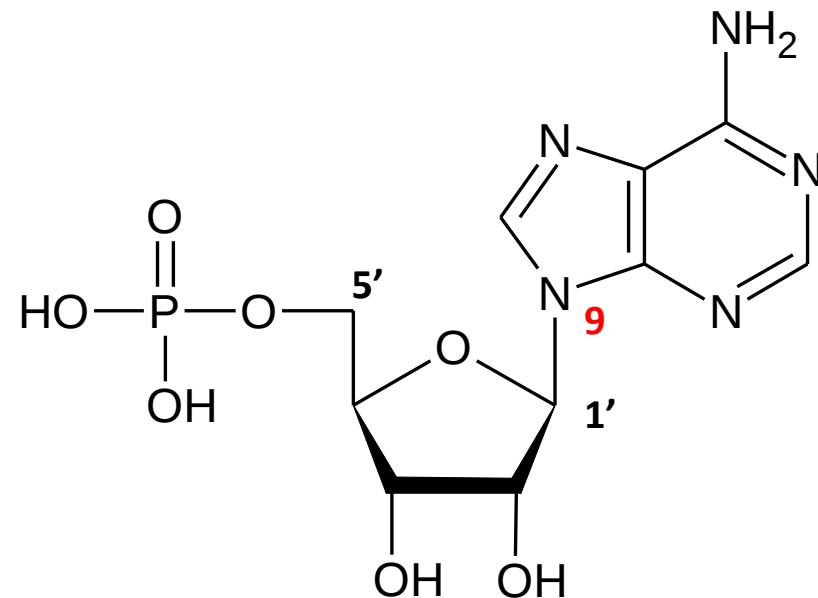
4-Теоуридин

НУКЛЕОТИДИ

- Нуклеотиди: нуклеозидот преку C-5' од шеќерната компонента е врзан со фосфатен остаток преку естерска врска.
- Рибонуклеотиди и
- Деоксирибонуклеотиди



Деоксиаденилат (деоксиаденозин 5'-фосфат)
A, dA или dAMP



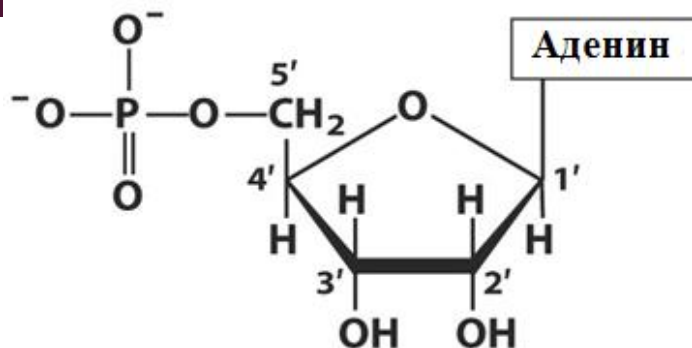
Аденилат (Аденозин 5'-фосфат)
A или AMP

НОМЕНКЛАТУРА НА НУКЛЕОЗИДИ И НУКЛЕОТИДИ

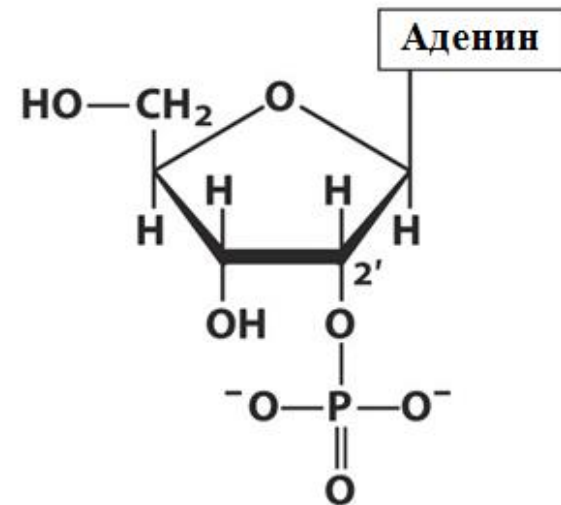
Азотна база	Нуклеозид	Нуклеотид	Нуклеинска киселина
Пурини			
Аденин	Адено зин Деоксиадено зин	Аденилат Деоксиаденилат	RNA DNA
Гванин	Гвано зин Деоксигвано зин	Гванилат Деоксигванилат	RNA DNA
Пиримидини			
Цитозин	Цити дин Деоксицити дин	Цитидилат Деоксицитидилат	RNA DNA
Тимин	Тими дин или деокситими дин	Тимидилат или деокситимилат	DNA
Урацил	Ури дин	Уридилат	RNA

АДЕНОЗИН МОНОФОФАТИ

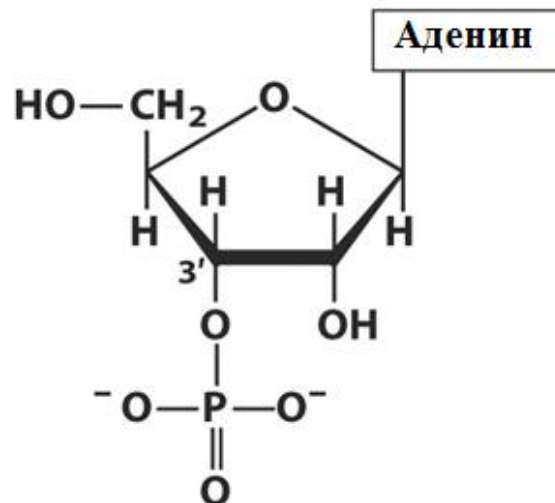
- **Нуклеозидот** може да формира **фосфатен моноестер** преку слободните —OH групи од шеќерната компонента: во положба **2', 3' или 5'**.
- При ензимската или алкална хидролиза на RNA како интермедијар се образува: **рибонуклеозид 2',3'-цикличен монофосфат (сAMP и сGMP)**.



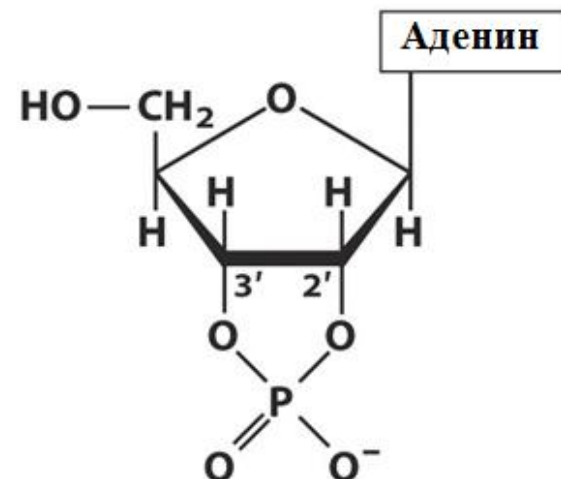
Аденозин 5'-монофосфат



Аденозин 2'-монофосфат



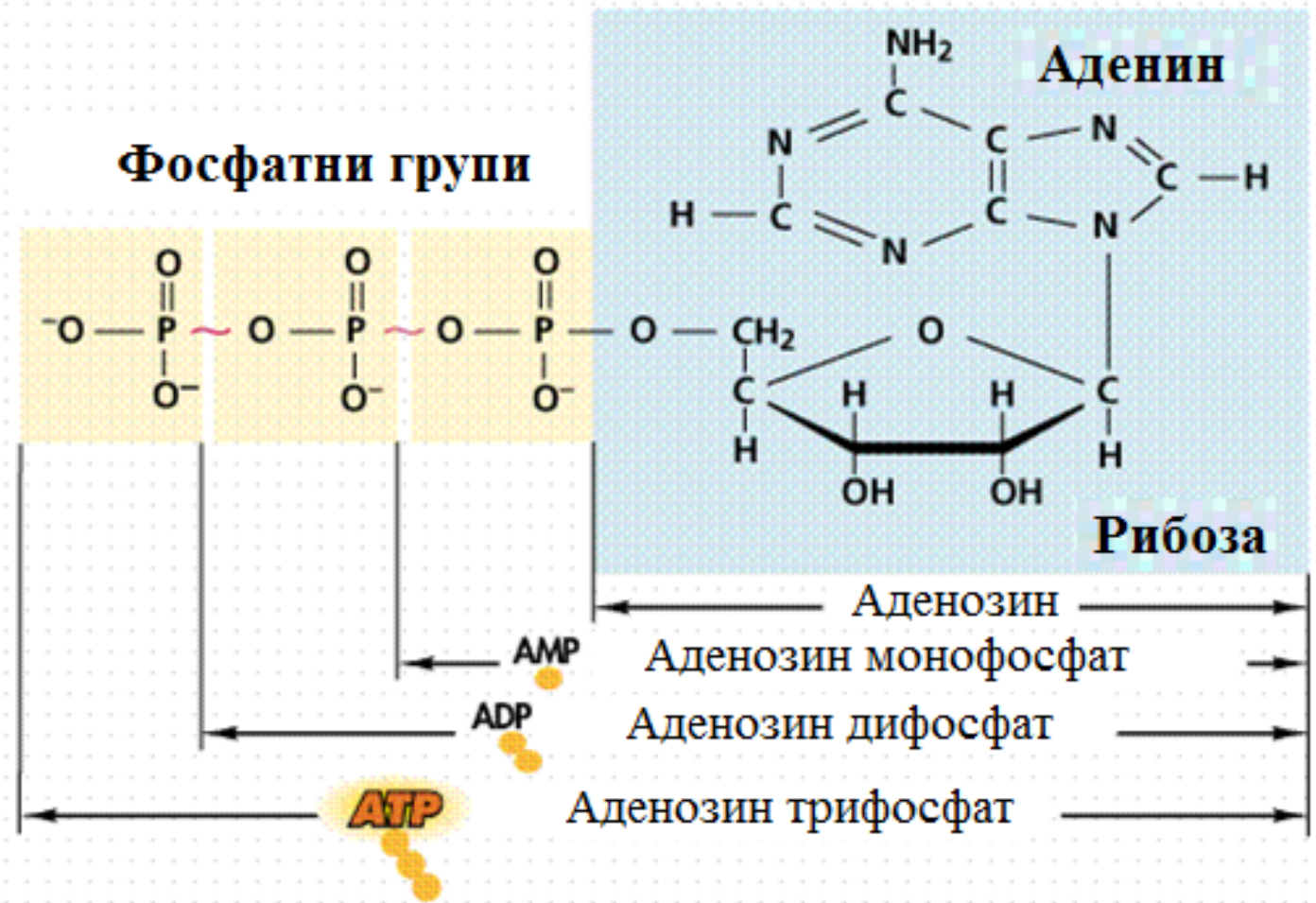
Аденозин 3'-монофосфат



Аденозин 2',3'-цикличен монофосфат

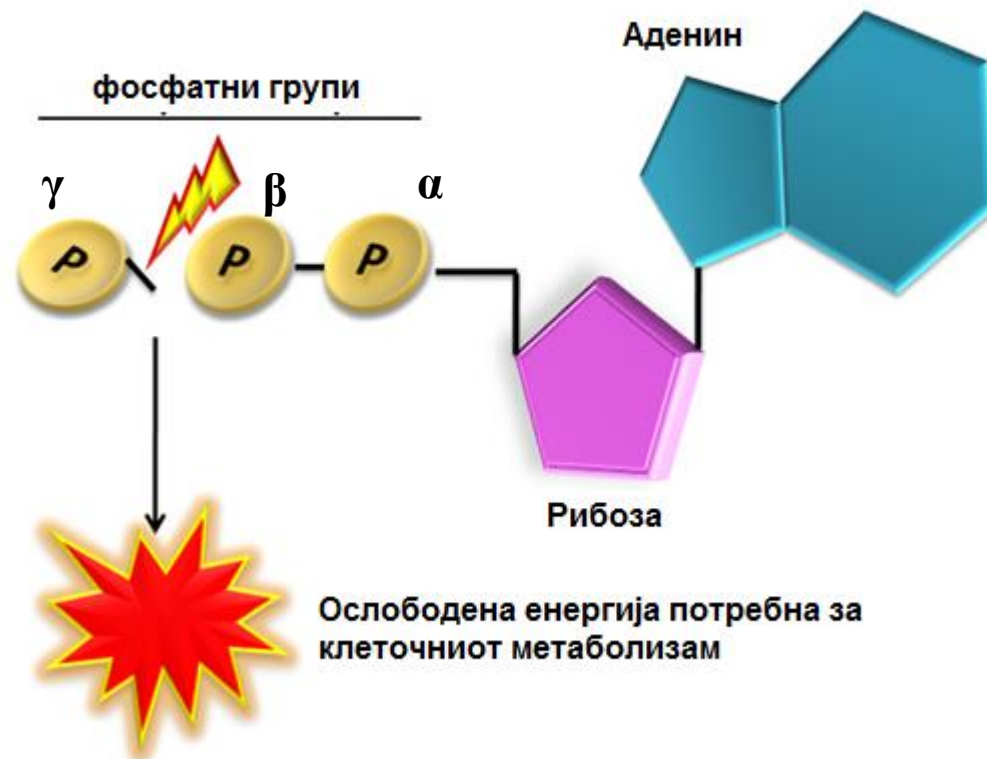
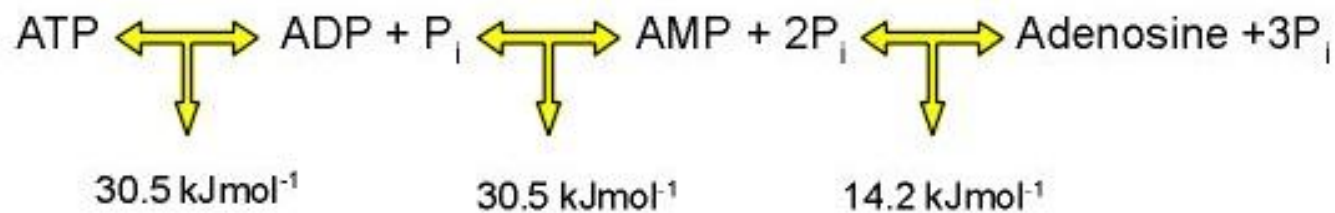
АДЕНОЗИН ФОСФАТИ

- Во зависност од бројот на фосфатни остатоци сврзани за шеќерната компонента во положба 5' од нуклеозидот, **нуклеотидот може да биде: монофосфат, дифосфат или трифосфат.**
- Со хидролиза на АТР се ослободува големо количество енергија, неопходна за функционирање на клетката.



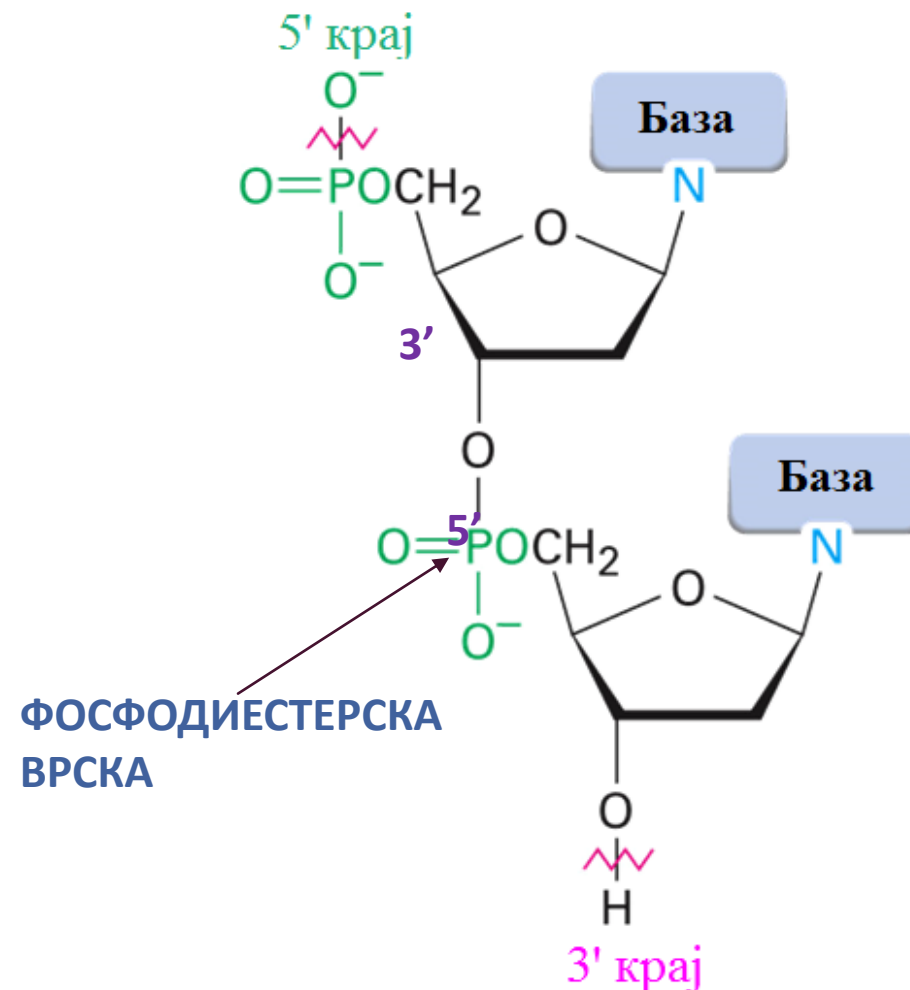
АДЕНОЗИН ТРИФОСФАТ

- Врската помеѓу рибозата и α фосфатот е **естерска** ($\Delta H = -14 \text{ kJ/mol}$).
- Врските α , β и γ се **фосфоанхидриди** ($\Delta H = -30 \text{ kJ/mol}$).



ПОЛИНУКЛЕОТИДИ

- **Нуклеотидите** меѓусебе ковалентно се сврзуваат преку фосфатен мост:
- 5'-фосфатната група на едната нуклеотидна единица е поврзана со 3'-хидроксилната група од соседниот нуклеотид.
- Се формира **фосфодиестерска врска**.
- Кратките нуклеински киселини се познати како **олигонуклеотиди** (полимерите кои содржат 50 или помалку нуклеотиди).
- Подолгите нуклеински киселини се нарекуваат **полинуклеотиди**.



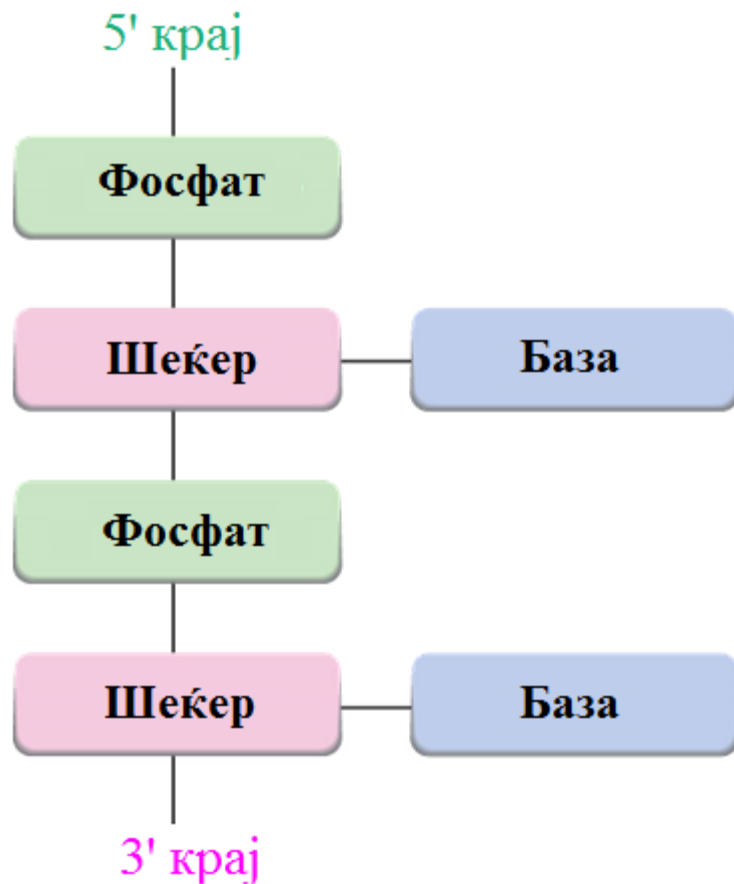


НУКЛЕИНСКИ КИСЕЛИНИ

ОПШТИ ПОИМИ

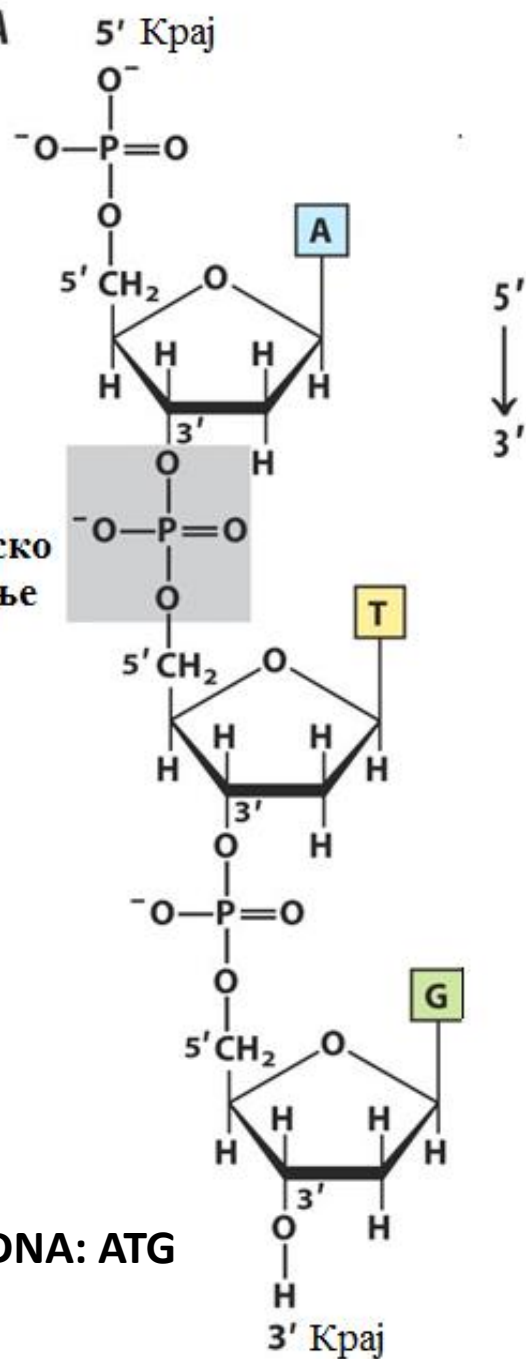


ОПШТА СТРУКТУРА НА НУКЛЕИНСКИ КИСЕЛИНИ



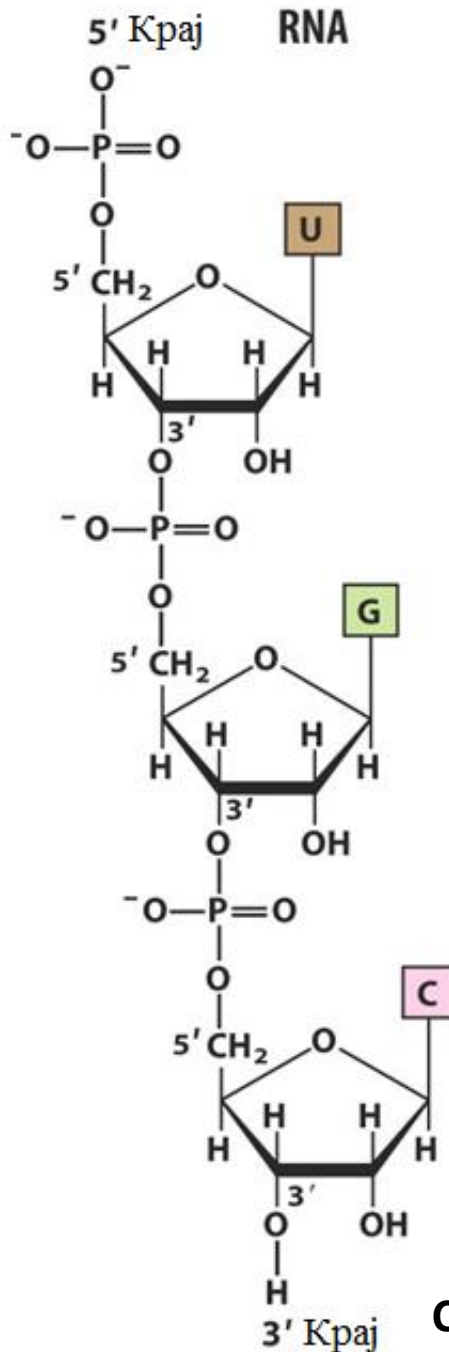
- Ковалентниот скелет на нуклеинските киселини е изграден од наизменични фосфатни и пентозни остатоци.
- Азотните бази може да се сметаат за странични групи кои се сврзуваат со скелетот во правилни интервали.
- Скелетот на нуклеинските киселини е хидрофилен.

DNA



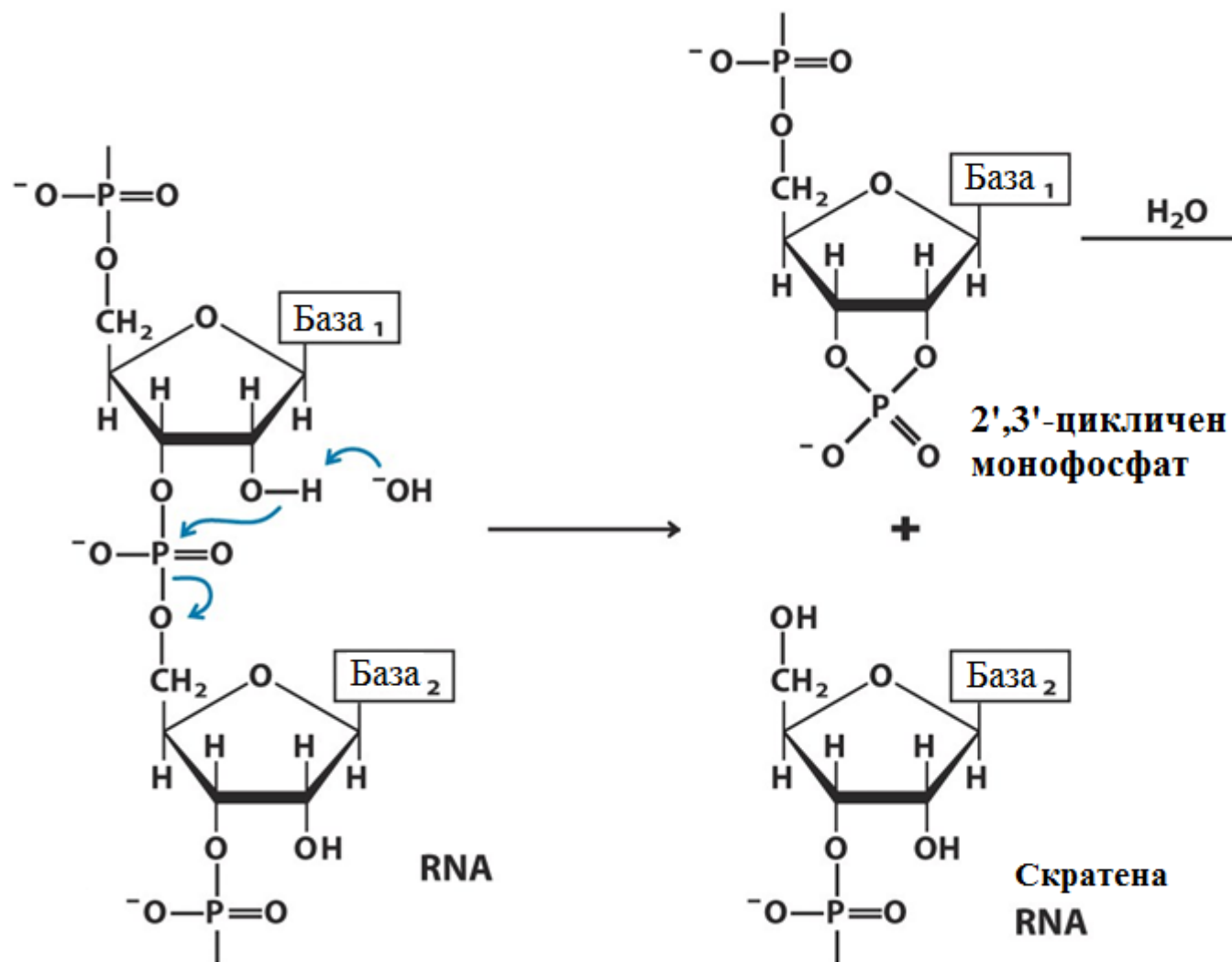
Секвенца на DNA: ATG

RNA



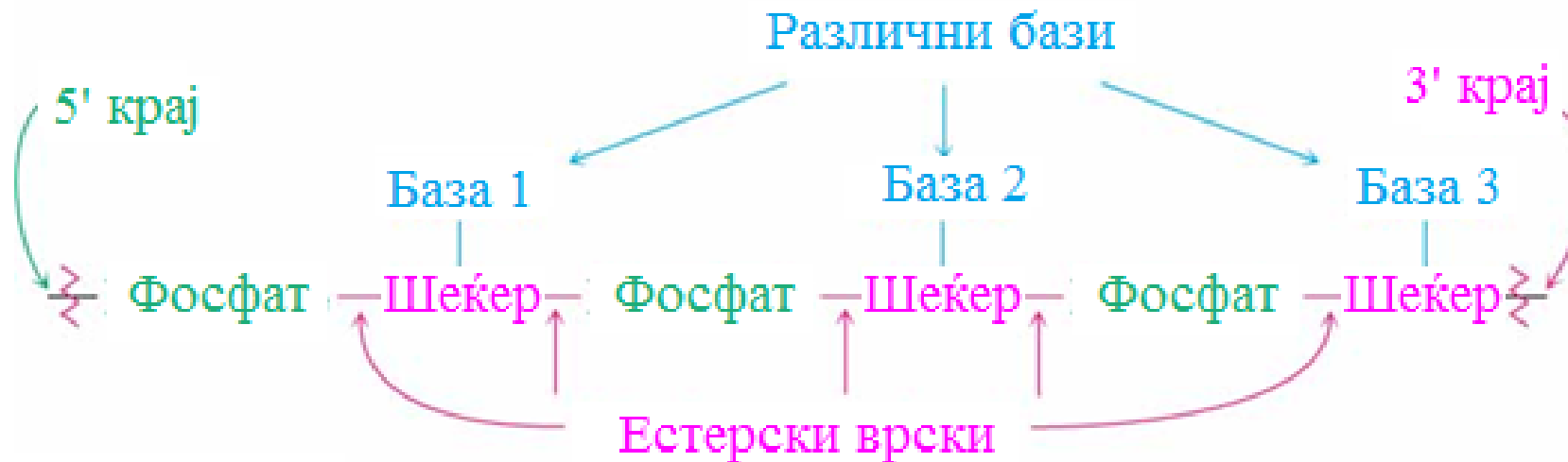
Секвенца на RNA: UGC

- Сите фосфодиестерски врски во DNA или RNA имаат иста ориентација долж низата и различни 5' и 3' краеви.
- На едниот крај полимерната молекула на нуклеинската киселина има слободна хидроксилна група во положба C3' (3' крај), а на другиот фосфатен остаток на C5' (5' крај).
- Низата на нуклеинската киселина започнува со 5', а завршува со 3'. **Ознаката од 5' до 3' се однесува на почетокот и на крајот на низата.**



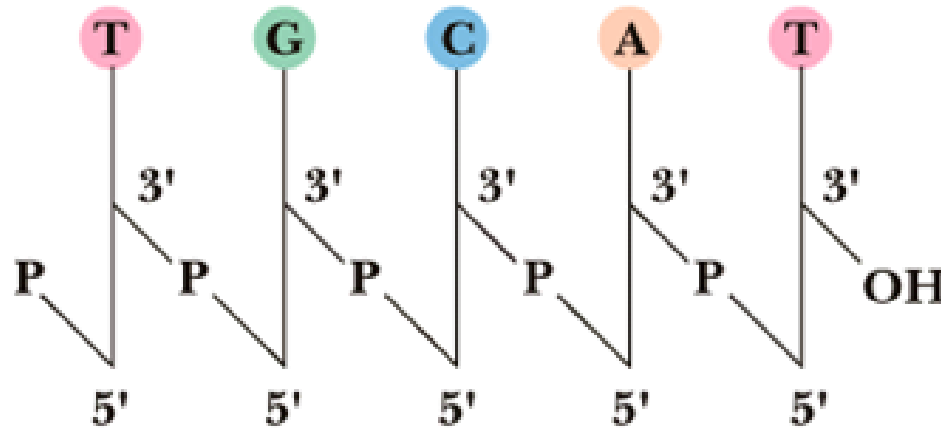
- Ковалентниот скелет во DNA и RNA бавно и неензимски хидролизира.
- За разлика од DNA, RNA брзо хидролизира дури и во слабоалкални раствори. Зошто?
- Нуклеофилниот атак од хидроксидот на алкохолната група во положба 2', резултира со отворање на фосфодиестерскиот мост и образување на 2'3'-циклический монофосфат.
- Овој нуклеотид брзо хидролизира и се добива смеса од 2'-нуклеозид и 3'-нуклеозид монофосфати.

ПРЕТСТАВУВАЊЕ НА НУКЛЕИНСКИ СЕКВЕНЦИ



- Секвенцата на една полинуклеотидна низа секогаш започнува од нејзиниот 5' крај, кој се пишува на левата страна, додека 3' крајот се пишува на десната страна: 5'→3'.
- Разликите меѓу нуклеинските киселини произлегуваат од редоследот на азотни бази.
- Нуклеозидите поврзани преку фосфатен остаток се запишуваат со нивните кратенки: А за аденозин, Г –гванозин, Т-тимидин, С-цитидин, У-урудин.
- Пример за секвенца: **TAGGCT**

ПРЕТСТАВУВАЊЕ НА НУКЛЕИНСКИ СЕКВЕНЦИ



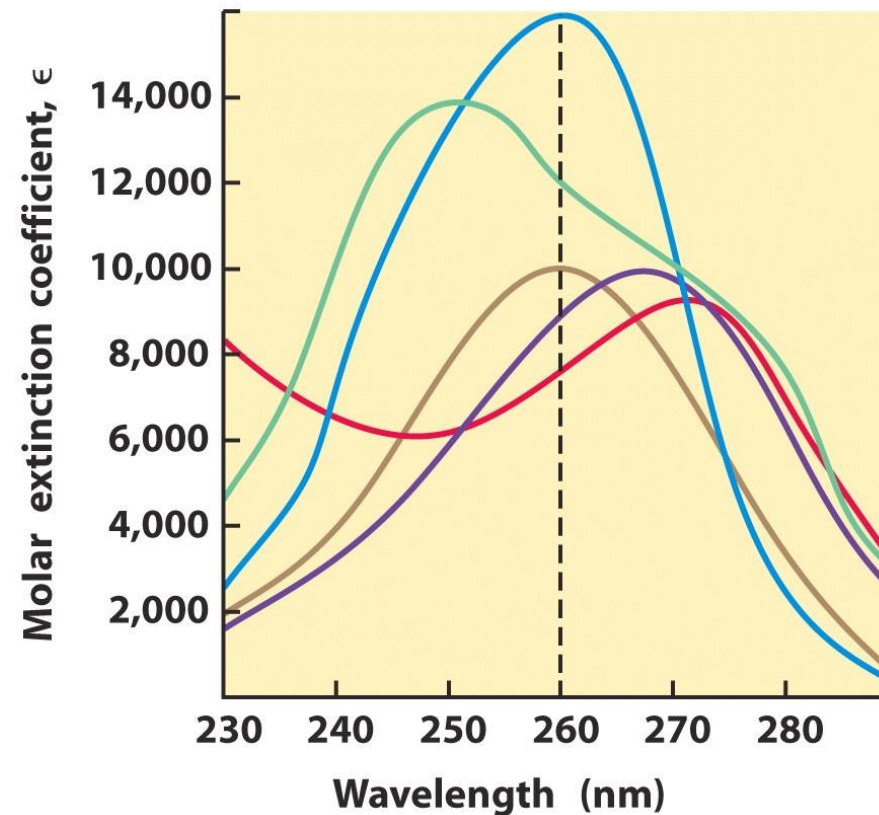
Шематски приказ на сегмент од DNA.

pT-G-C-A-TОН, pTpGpCpApT или pTGCAТ.

- Фосфатните групи се означуваат со P
- Деоксирибоза се претставува со вертикални линии, на врвот е C-1' атомот, најдолу C-5' .
- За C-1' N-гликозидно е сврзана азотната база, запишана со соодветна кратенка.
- Дијагоналните линии кои ги поврзуваат нуклеотидите започнуваат од средината на од деоксирибозата на едниот нуклеотид (C-3'), минуваат низ P сè до крајот на следниот нуклеотид (C-5').

ВЛИЈАНИЕ НА АЗОТНИТЕ БАЗИ ВРЗ 3D СТРУКТУРАТА НА НУКЛЕИНСКИТЕ КИСЕЛИНИ

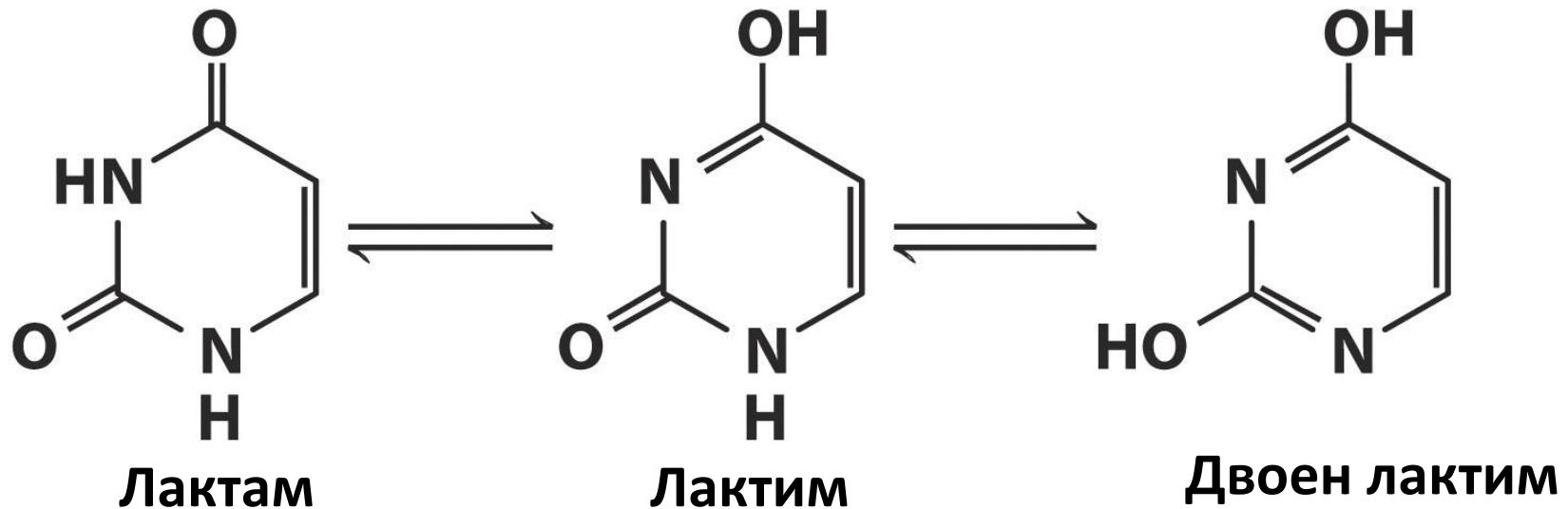
- Зошто пурините и пиримидините ги нарекуваме **азотни бази**?
- Пурините и пиримидините во молекулите на DNA и RNA се **ароматични молекули** (конјугирани двојни врски - хромофорни групи), **кои апсорбираат UV светлина**, поради што нуклеинските киселини силно ја апсорбираат светлината на **260 nm** бранова должина.
- Поради делокализацијата на електроните во цикличните структури, азотните бази имаат **планарни молекули**.



Molar extinction coefficient at 260 nm, ϵ_{260} ($M^{-1}cm^{-1}$)

AMP	15,400
GMP	11,700
UMP	9,900
dTMP	9,200
CMP	7,500

ВЛИЈАНИЕ НА АЗОТНИТЕ БАЗИ ВРЗ 3D СТРУКТУРАТА НА НУКЛЕИНСКИТЕ КИСЕЛИНИ

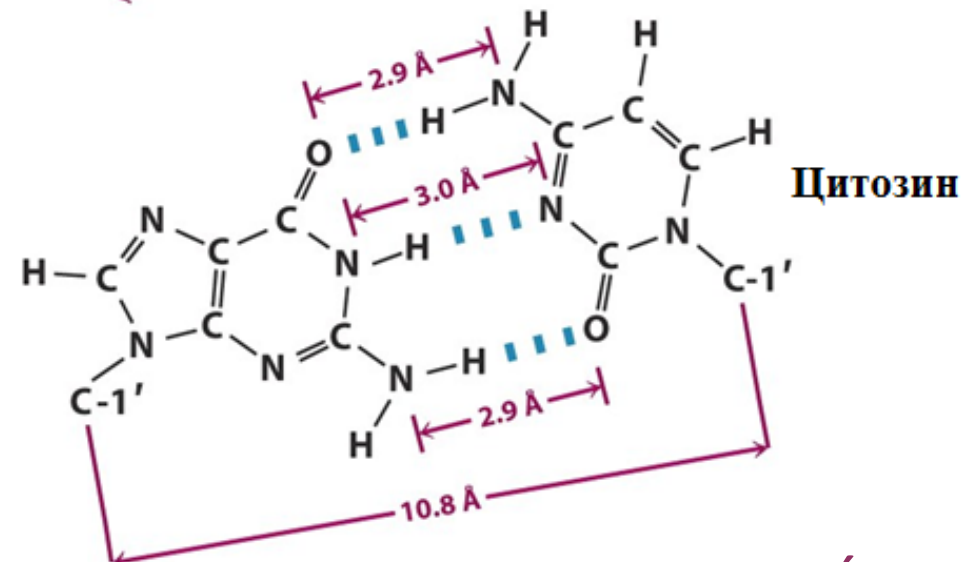
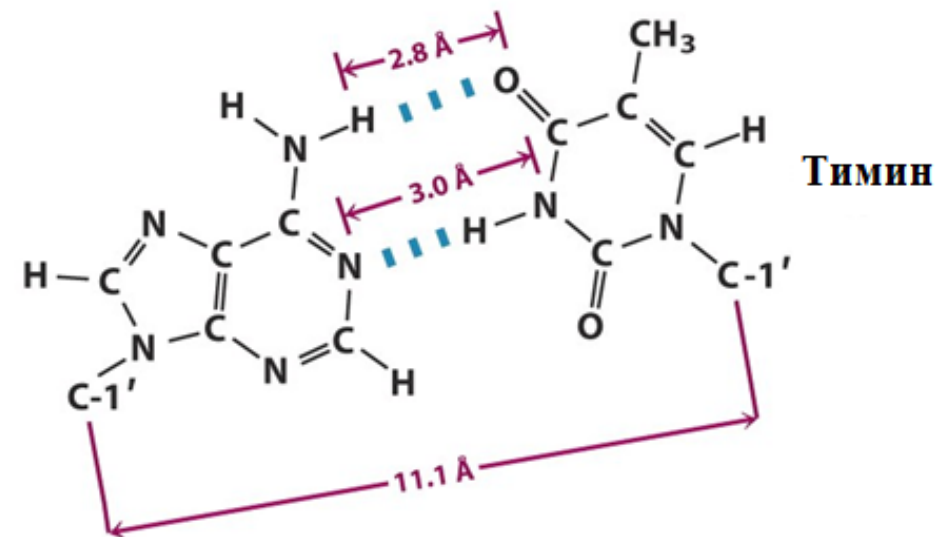
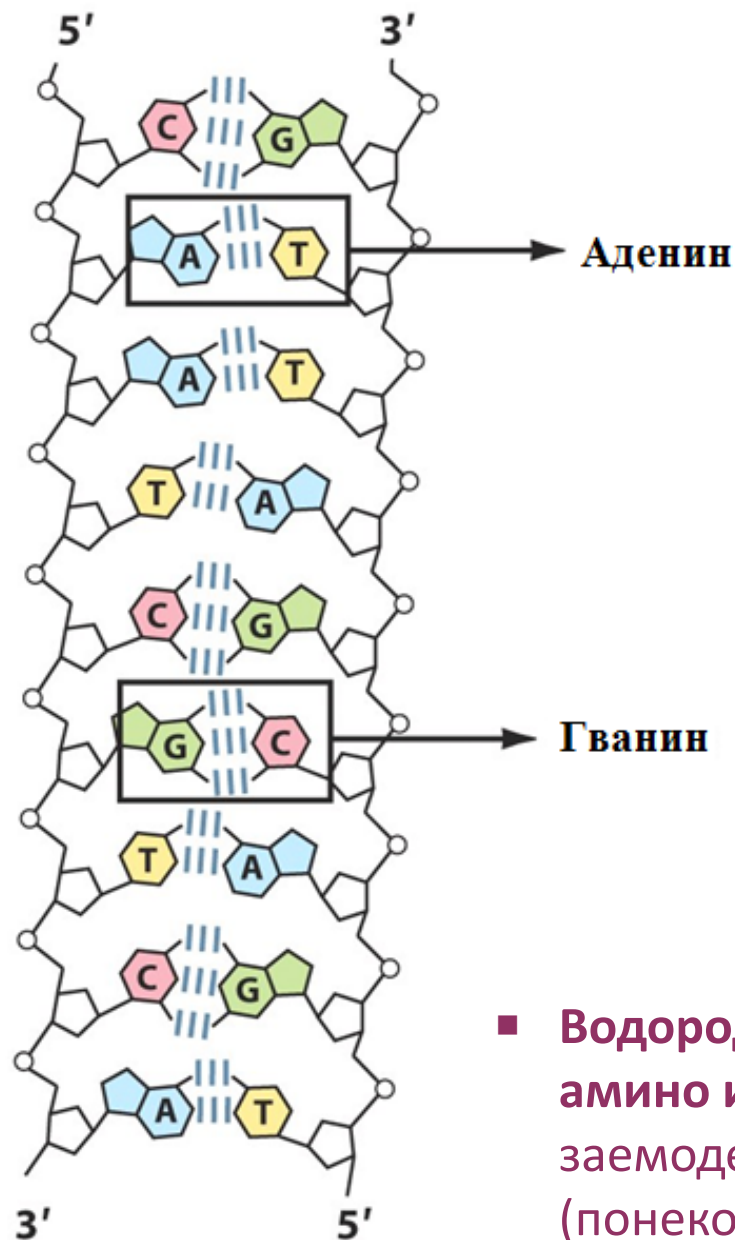


- Во зависност од вредноста на pH, слободните пиримидински и пурински бази можат да постојат во **две или повеќе таутомерни форми**.
- При pH = 7, **доминира лактамската форма (цикличен амид)** на урацил: доминантен е кето таутомерот во однос на енол.
- Кето таутомер постои и кај лактим формата.

ВЛИЈАНИЕ НА АЗОТНИТЕ БАЗИ ВРЗ 3D СТРУКТУРАТА НА НУКЛЕИНСКИТЕ КИСЕЛИНИ

- Пуринските и пиримидинските бази се **хидрофобни и релативно нерастворливи во вода** при неутрални вредности на pH во клетката.
- **Видови интеракции меѓу азотните бази:**
- **Хидрофобни интеракции** - се одвиваат помеѓу две или повеќе бази подредени во паралелни рамнини (како парички), значајни се за стабилизирањето на тридимензионалната структура на нуклеинските киселини
- **Ван дер Ваалсови сили и дипол-дипол интеракции** – влијаат врз подредувањето на базите, што помага да се минимизира контактот на базите со водата.
- **Водордни врски**

Водородни врски



- Водородните врски кои се остваруваат помеѓу амино и карбонилните групи се најважните заемодејства кои настануваат помеѓу две (понекогаш три или четири) комплементарни низи на нуклеинските киселини.