

ЧАСТИНА 12. НУКЛЕЇНОВІ КИСЛОТИ (НК)

Нуклеїнові кислоти – це біополімери, структурними одиницями яких є мононуклеотиди, з'єднаних між собою фосфодієфірними зв'язками

Нуклеїнові кислоти були відкриті у 1868 р. швейцарським вченим Фрідрихом Мішером в ядрах клітин. У 1889 р. Альтман встановив кислий характер їх і назвав нуклеїновими кислотами. І тільки за 85 років у 1953 р. Дж. Уотсоном (американський біохімік) та Ф. Кріком (англійський фізик) була встановлена їх структура.

Молярна маса нуклеїнових кислот становить 20000-10000000.

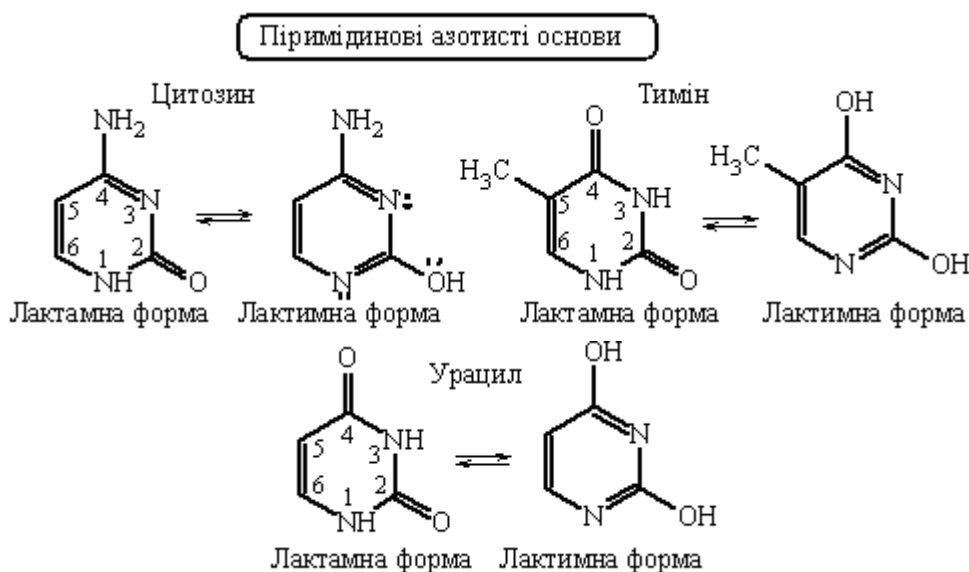
Фундаментальні функції нуклеїнових кислот:

- забезпечують зберігання та передачу спадкової інформації;
- беруть участь в реалізації генетичної інформації шляхом програмування синтезу білків.

12.1. Компоненти нуклеїнових кислот

Структурними одиницями нуклеїнових кислот є азотисті основи (АО) піримідинового та пуринового рядів, вуглеводи (В) та фосфатна кислота (Ф).

Азотисті основи піримідинового ряду: урацил (У), тимін (Т), цитозин (Ц)



Назви основ можна записувати трьохбуквеним кодом У – Ura, Т – Thy, Ц – Cyt.

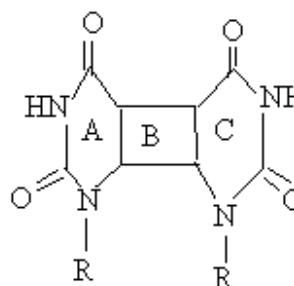
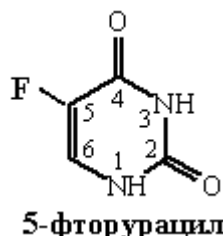
Чому можлива лактим-лактимна таутомерія? В лактимній формі піримідинові атоми Нітрогену $N_{1,3}$ мають неподілену електронну пару, яка не бере участі в супряженні (ці атоми Нітрогену віддають π -електрони на π, π -супряження), тому на них зосереджена велика електронна густина. Атоми оксигену $O_{2,6}$ віддають електронну пару на ρ, π -супряження (як в молекулі фенолу), протони біля них стають рухливими, переходять до атомів нітрогену, і утворюється лактамна форма.

В якій формі піримідинові основи входять до складу нуклеїнових кислот? Це можна пояснити будовою молекули та термодинамічною стійкістю. Лактимна (окси) - форма має супряження, ароматичність і тому термодинамічно стійкіша. Але при цьому не може утворитися зв'язок з вуглеводом.

Лактамна (оксо)-форма, в якій ароматичність зберігається завдяки кросс-супряженню між C_2 та C_6 , термодинамічно менш стійка, але вона може утворити зв'язок з вуглеводом по N_9 .

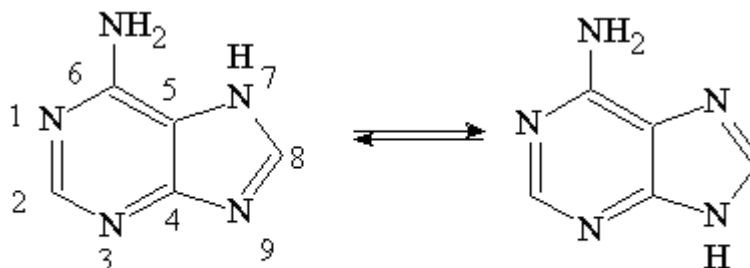
Хімічні властивості

- 1) Добре розчиняються в гарячій воді, погано в спирті, н.р. в етері.
- 2) Це супряжені та ароматичні системи.
- 3) В лактимній формі проявляють основність по $N_{1,3}$ за рахунок неподіленої електронної пари атома Нітрогену; кислотність – по OH -групі (подібно фенольному гідроксилу).
- 4) В лактамній формі проявляють кислотні властивості по NH -групі (дають солі з Li).
- 5) Дають реакції S_N по $C_{2,4,6}$ (нуклеофілами можуть бути $-OH$, $-NH_2$).
- 6) Дають реакції S_E по C_5 (*5-фторурацил – протипухлинний засіб; конкуруючи з урацилом та тиміном, він порушує будову ДНК, тобто діє як антиметаболіт*).
- 7) Утворюють циклодимери по $C_5=C_6$ в результаті опромінення світлом або радіацією: це первинний процес руйнування ДНК.

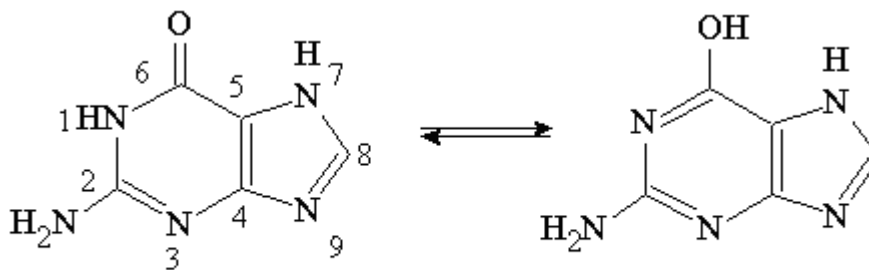


циклодимер

Азотисті основи пуринового ряду: аденін(A), гуанін(G):



Таутомерні форми аденіну



Таутомерні форми гуаніну

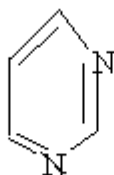
Назви основ можна записувати трибуквеним кодом А – Ade, Г – Gua.
Для гуаніну характерна лактим-лактамна таутомерія.

Хімічні властивості

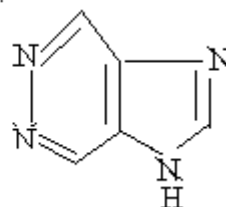
- 1) Мало розчинні у воді та спирті.
- 2) Добре розчиняються в кислотах та лугах, утворюючи солі.
- 3) Це супряжені та ароматичні системи. Порівняємо енергію делокалізації (супряження) циклів, які лежать в основі азотистих основ:



155кДж/моль
бензен



189кДж/моль
піримідин



210-336кДж/моль
пурин

Найбільшу енергію супряження зі всіх азотистих основ має аденін. Енергетичні витрати на його синтез становлять 210-252кДж і компенсуються його високою енергією супряження.

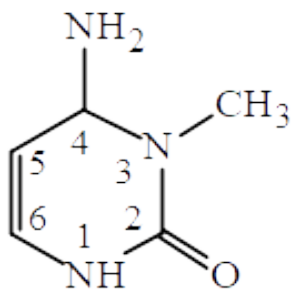
- 4) Проявляють кислотні та оснóвні властивості.
- 5) Дають реакції S_N по C_6 (6-меркаптопурин – протипухлинний засіб; конкуруючи з аденіном, порушуює будову ДНК).
- 6) До складу нуклеїнових кислот входять в лактамній формі.

Крім нуклеїнових кислот аденін міститься також в дріжджах, печінці, м'язах; гуанін – в чаї, цукрових буряках, грибах, до складу луски риб, плазунів (чим пояснюється їх переливчатий блиск).

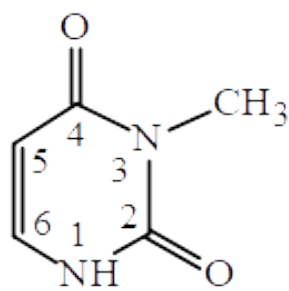
Якісні реакції на азотисті основи:

- реакція Драгендорфа: з ViI_3 вони дають коричневий осад;
- з амоніачним розчином аргентуму – чорний осад.

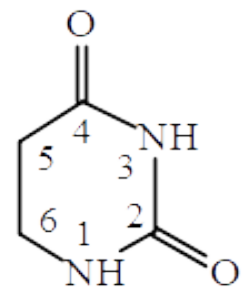
В НК в невеликих кількостях містяться *мінорні* основи (які рідко зустрічаються): дигідроурацил, 5-N-метилурацил, 3-N-метилцитозин, ксантин та 7-N-метилгуанін:



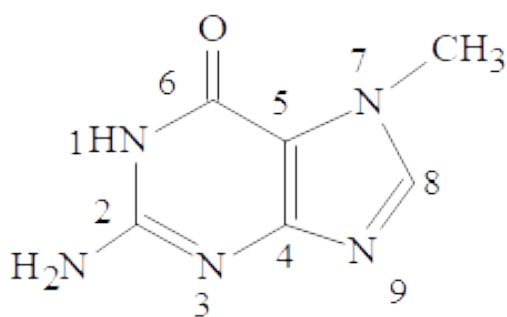
3-N-метилцитозин



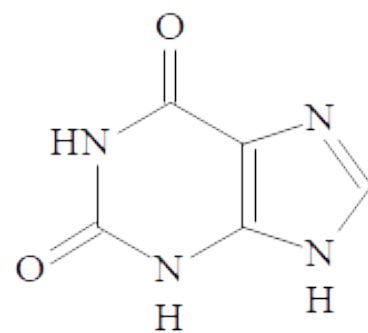
5-N-метилурацил



Дигідроурацил

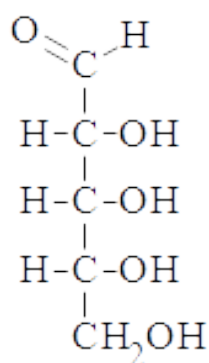


7-N-метилгуанін

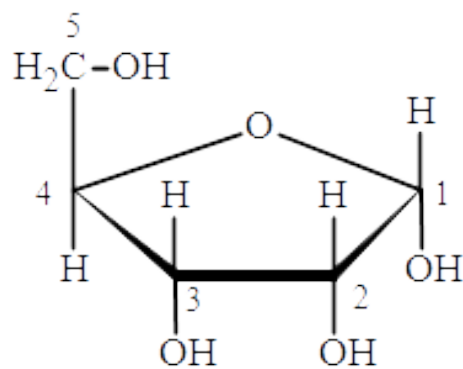


Ксантин

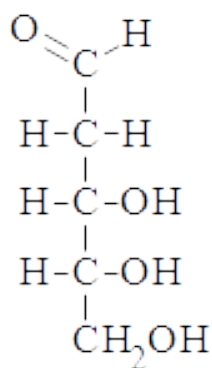
Вуглеводний фрагмент(В): рибоза або дезоксирибоза



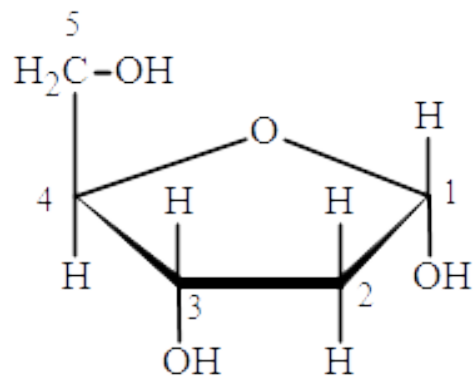
D-рибоза



α -D-рибофураноза

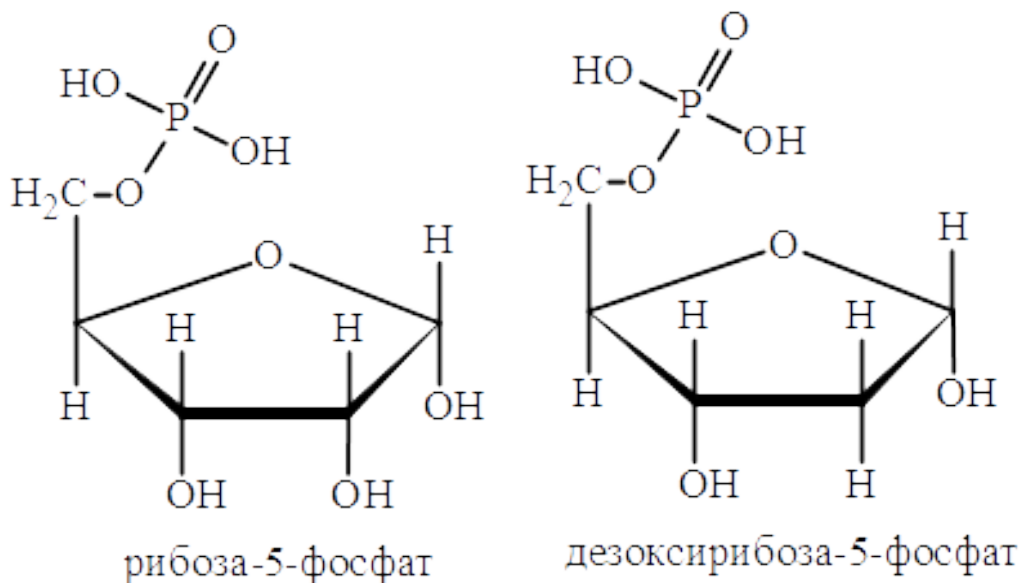


D-дезоксирибоза



α -D-дезоксирібофураноза

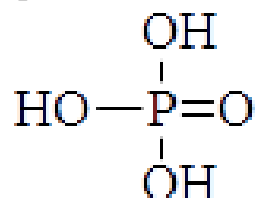
Рибоза та дезоксирибоза дають реакції, які характерні для альдогексоз. З H_3PO_4 дають естери по всіх оксигрупах, але найбільше біологічне значення мають естери по C_5 :



В організмі спочатку іде синтез цих естерів, а потім утворюється глікозидний зв'язок з азотистою основою.

Якісна реакція на вуглеводний фрагмент – це проба Троммера або Фелінга (з $\text{Cu}(\text{OH})_2$ за температури випадає цегляно-червоний осад Cu_2O).

Фосфатна кислота (P)



Це трьохосновна кислота, обумовлює розчинність нуклеїнових кислот, надає кислотних властивостей, збільшує реакційну здатність, утворює складнофірні зв'язки з вуглеводом.

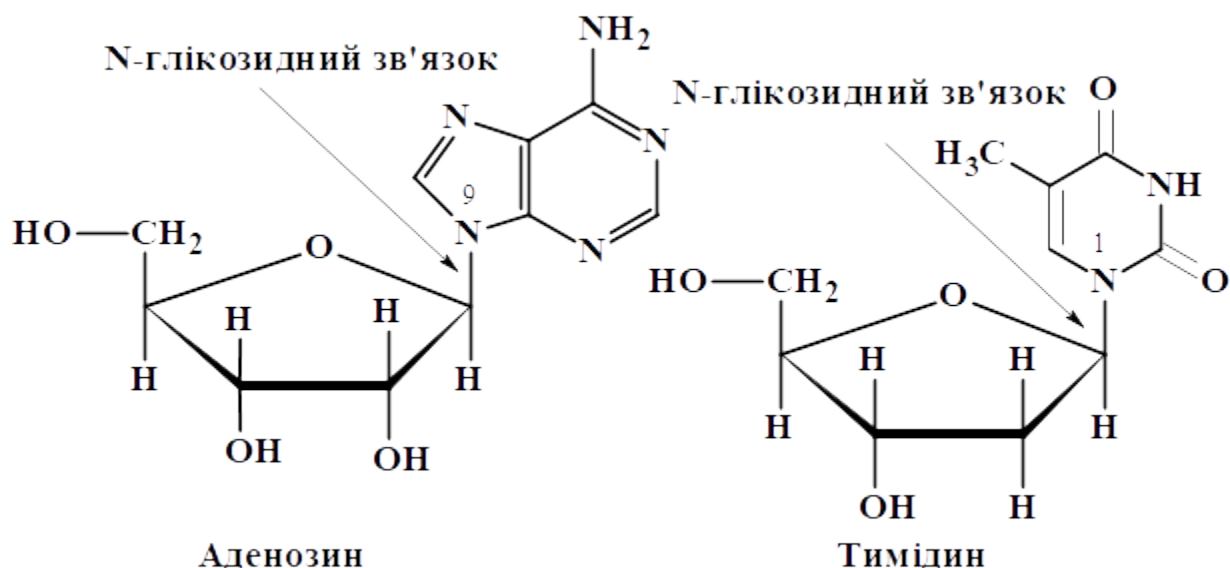
Якісна реакція – молібденова проба (з молібденовим реактивом $\text{Na}_2\text{MoO}_4 + \text{HNO}_3$ за температури дає жовтий осад).

Нуклеозиди

Нуклеозиди – це N-глікозиди, агліконом яких є азотиста основа

Тобто, нуклеозиди складаються із залишків азотистої основи та вуглевода.

Зв'язок здійснюється між N_1 піримідинової основи або N_9 пуринової основи та C_1' вуглевода, який має β -конфігурацію, тобто вони з'єднуються N-глікозидним зв'язком. Нуклеозиди гідролізуються в кислому середовищі на азотисту основу та вуглевод.



Залежно від природи вуглеводного залишку розрізняють *рибонуклеозиди* та *дезоксирибонуклеозиди*.

Таблиця 21.

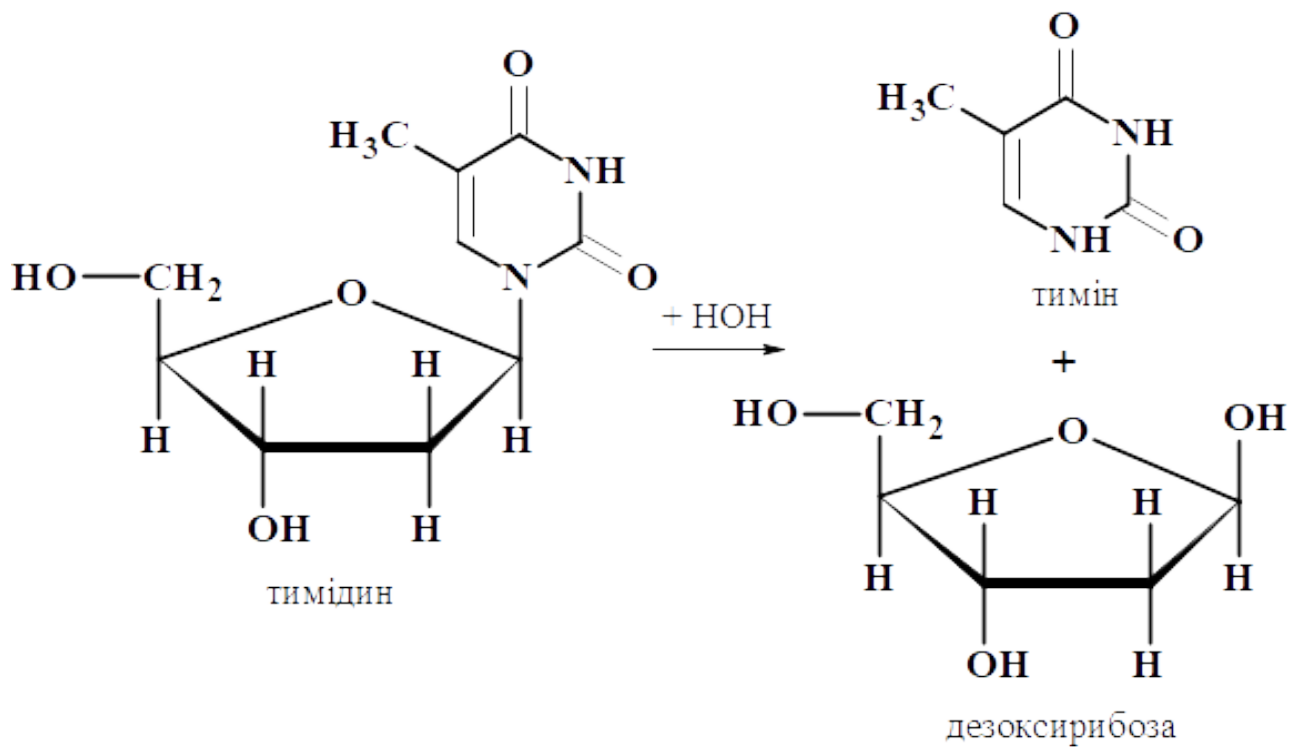
Номенклатура нуклеозидів

Азотиста основа, вуглевод	Назва
Рибонуклеозиди	
У-рибоза	уридин
Т-рибоза	тимідин(тимінрибозид)
Ц-рибоза	цитидин
А-рибоза	аденозин
Г-рибоза	гуанозин
Дезоксирибонуклеозиди	
У-д-рибоза	дезоксиуридин
Т-д-рибоза	тимідин
Ц-д-рибоза	дезоксицитидин
А-д-рибоза	дезоксиаденозин
Г-д-рибоза	дезоксигуанозин

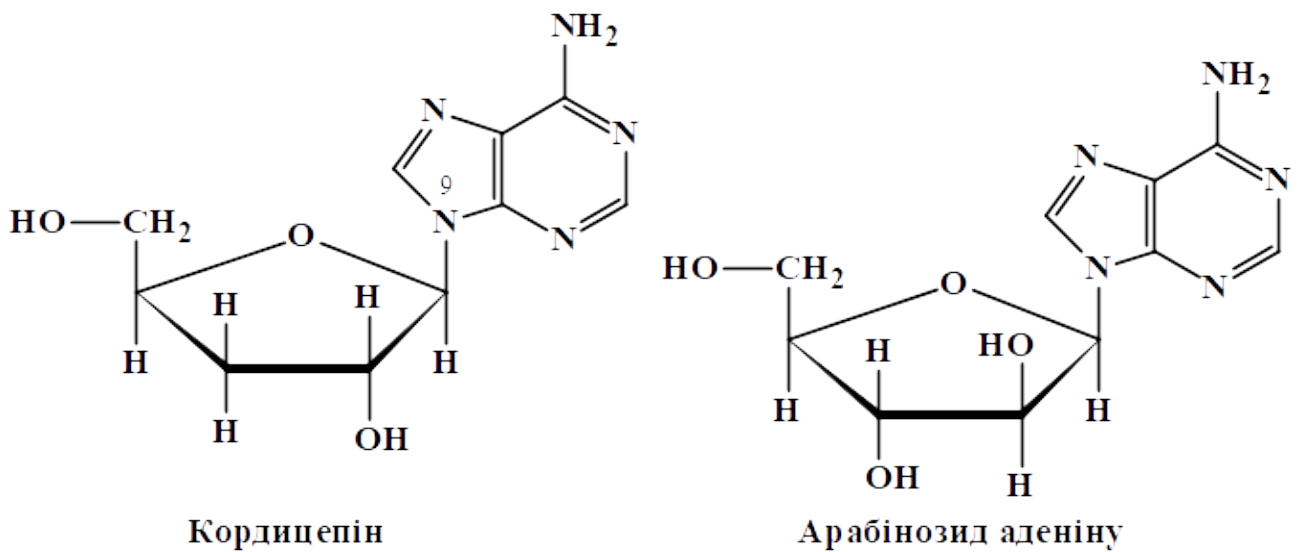
Назви нуклеозидів визначаються їх агліконом: назви похідних піримідину мають закінчення «идин», а похідні пурину – закінчення «озин».

Може бути і хімічна назва, наприклад, β -D-рибофуранозиладенін (аденозин).

Нуклеозиди гідролізуються в кислому середовищі по N-глікозидному зв'язку:

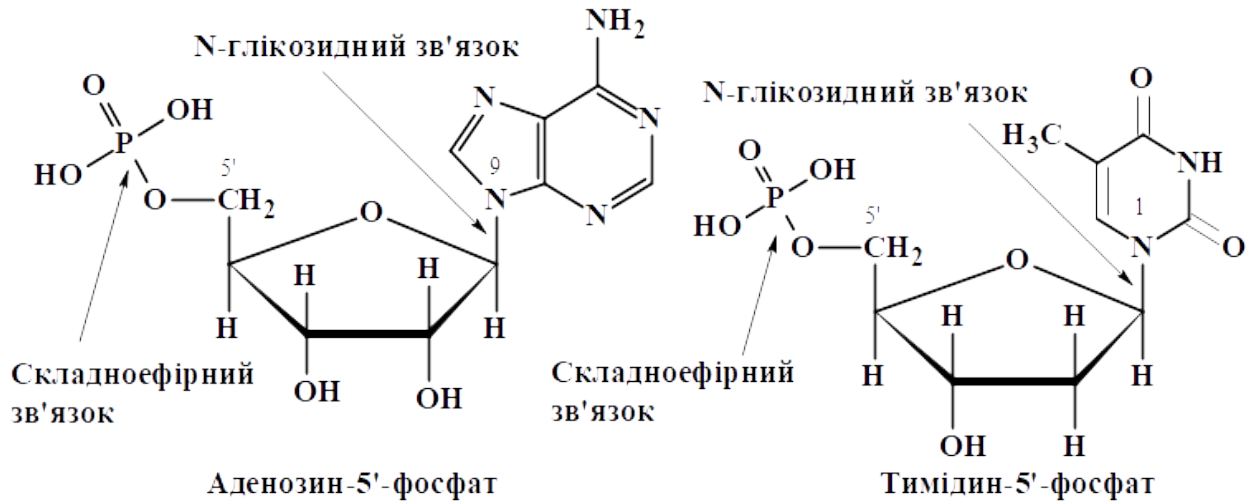


Деякі модифіковані нуклеозиди проявляють антибіотичну дію (кордицепін), противірусну активність (арабінозид аденіну) тому що вони виконують роль антиметаболітів, тобто за структурою схожі на метаболіти, які є структурними одиницями нуклеїнових кислот, але найменші зміни в структурі призводять до порушення структури НК.



Мононуклеотиди – це фосфати нуклеозидів

Мононуклеотид –це мономерна одиниця НК і уявляє собою фосфорильований нуклеозид. Склад мононуклеотиду – АО – В – Ф.



Тобто, нуклеозиди складаються із залишків азотистої основи, вуглевода та фосфатної кислоти. Типи зв'язків: між азотистою основою та вуглеводом – N-глікозидний зв'язок, а між вуглеводом та фосфатною кислотою – складноефірний зв'язок.

Залежно від природи вуглеводного залишку розрізняють *рибонуклеотиди* та *дезоксирибонуклеотиди*

Таблиця 22.

Номенклатура мононуклеотидів

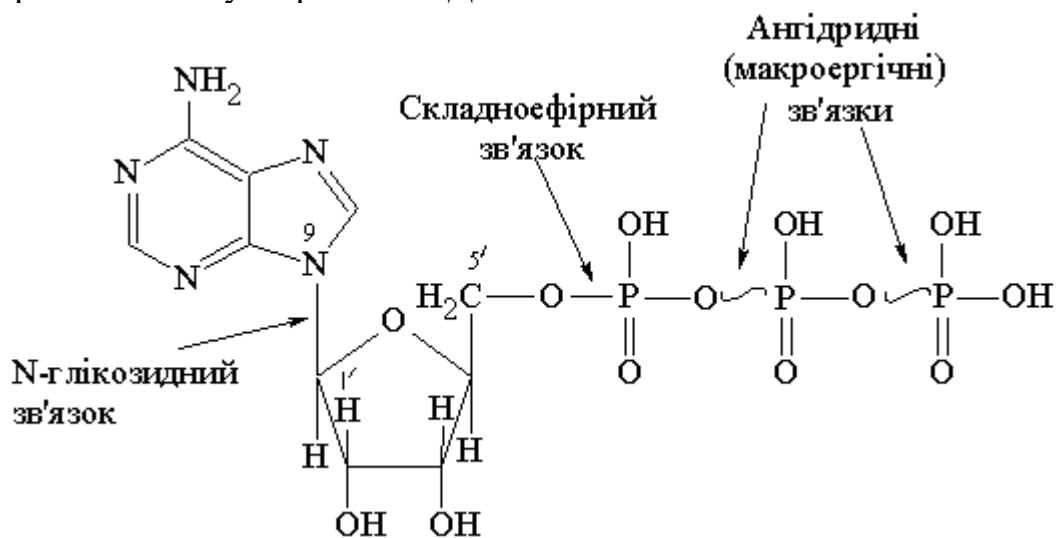
Нуклеїнова кислота	Структурні компоненти	Назва	
		як монофосфат	як кислота
РНК	У-рибоза-Р	Уридин-5'-фосфат (УМФ)	Уриділова кислота
	Ц-рибоза-Р	Цитидин-5'-фосфат (ЦМФ)	Цитиділова кислота
	А-рибоза-Р	Аденозин-5'-фосфат (АМФ)	Аденілова кислота
	Г-рибоза-Р	Гуанозин-5'-фосфат (ГМФ)	Гуанілова кислота
ДНК	Т-д-рибоза-Р	Тимідин-5'-фосфат (дТМФ)	Тимідилова кислота
	Ц-д-рибоза-Р	дезоксицитидин-5'-фосфат (дЦМФ)	Дезоксицитиділова кислота
	А-д-рибоза-Р	Дезоксиаденозин-5'-фосфат (дАМФ)	Дезоксиаденілова кислота
	Г-д-рибоза-Р	Дезоксигуанозин-5'-фосфат (дГМФ)	Дезоксигуанілова кислота

Можуть бути також нуклеозид-3'-фосфати та нуклеозид-2'-фосфати. Але розглядатимуться нуклеозид-5'-фосфати, тому що вони не тільки є структурними одиницями НК, але мають самостійне значення (АТФ, НАД).

Фосфорилування *in vitro* здійснюється за допомогою P_2O_5 , $POCl_3$, естерів фосфатної кислоти. Реакція іде в першу чергу по первинноспиртовій оксигрупі біля C_5 (механізм S_N) з утворенням моонуклеотиду (вторинноспиртові оксигрупи кисліші за первинноспиртову).

12.2. Аденозинтрифосфат (АТФ)

Одним із важливих нуклеотидів, який бере участь в багатьох біохімічних реакціях, є фосфорильовані похідні нуклеотидів: аденозин-5'-фосфат або аденозинмонофосфат (АМФ). В організмі людини проходить його подальше фосфорилування з утворенням АДФ та АТФ.

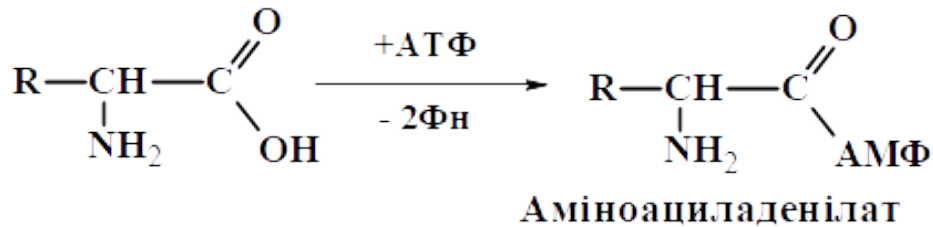


За хімічною будовою АТФ - нуклеотид, в якому є три типи зв'язків: N-глікозидний (C'_1-N_9), складноесфiрний (C'_5-O-P) та ангiдридний ($P-O-P$). В організмі іде реакція гiдролiтичного розщеплення АТФ, в першу чергу по ангiдридних зв'язках:

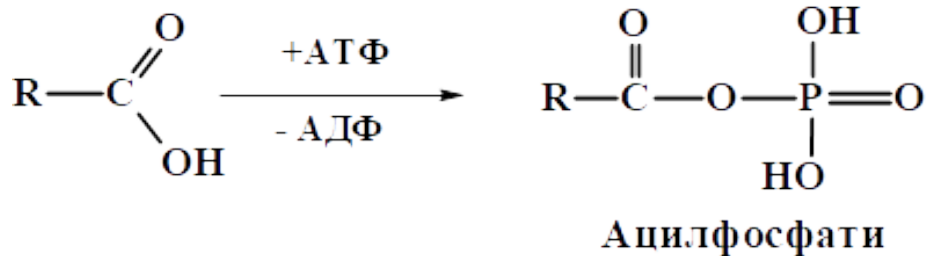


В результаті цього виділяється велика кількість енергії, що використовується для різних процесів – 31,2 кДЖ/моль. Тому АТФ є головною макроергiчною сполукою в організмі (є також УТФ, ЦТФ, ГТФ, 1,3-дифосфогліцерина кислота та ін). Енергія АТФ використовується під час м'язових скороченнях, біосинтезу білків, НК, ліпідів. Фосфатні групи, що відщеплюються йдуть на фосфорилування інших сполук, наприклад, глюкози і утворюється глюкозо-6-фосфат.

В процесі біосинтезу білків відбувається активація амінокислот за допомогою АТФ:

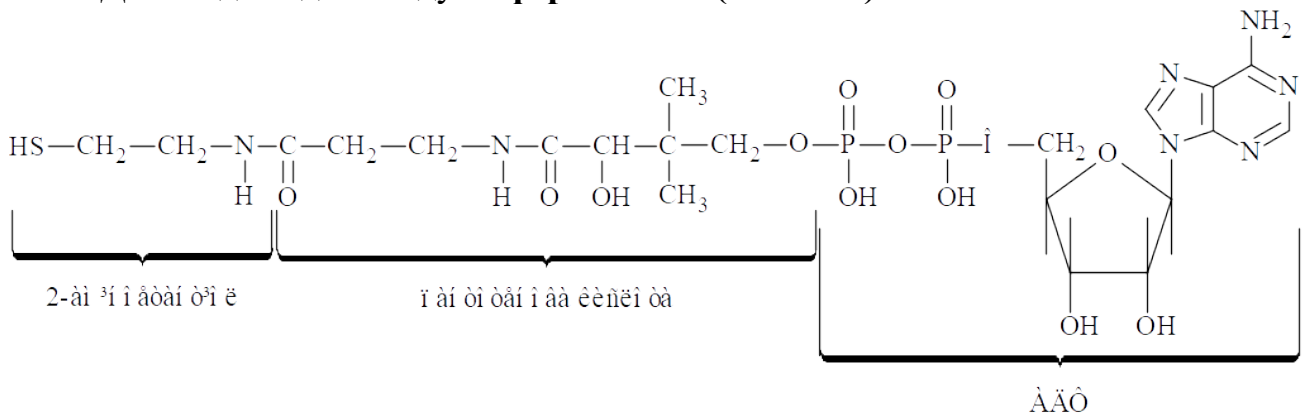


АТФ активує також жирні кислоти, жовчні кислоти та ін., утворюючи ацилфосфати:



АТФ використовується як лікарський засіб. Його отримують з м'язів, дріжджів, а також синтетично фосфорилуванням аденозин-5'-фосфату.

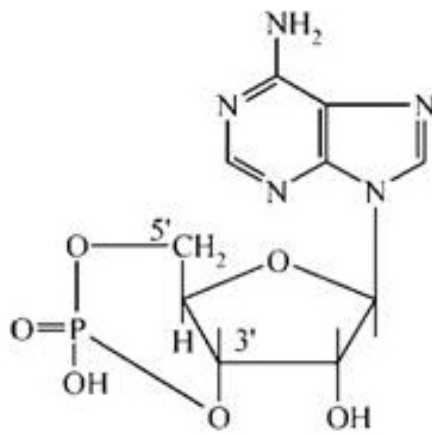
АДФ входить до складу **кофермента А (HS-KoA)** :



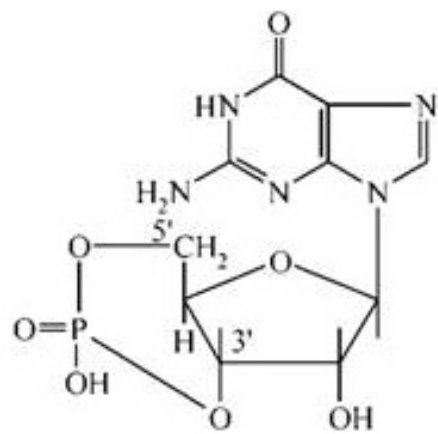
Кофермент А активує карбонові кислоти – активні форми називаються ацил-КоА.

Ще важливими коферментами нуклеотидної природи є **нікотинамід-аденіндинуклеотид НАД** та **нікотинамідаденіндинуклеотидфосфат НАДФ** (див. механізм гідрування альдегідів).

Існують нуклеотиди, в яких фосфатна кислота одночасно естерифікує дві гідроксигрупи пентози. Це група циклофосфатів або циклічних нуклеотидів. Наприклад: аденозин 3`5`циклофосфат, цАМФ) та циклічна гуанілова кислота (цГМФ).



цАМФ



цГМФ

Вони є вторинними посередниками через які реалізується внутрішньоклітинна дія гормонів на метаболічні процеси, регулюють внутрішньоклітинні процеси і зокрема перетворюють білки у ферменти.

12.3. Полінуклеотиди або нуклеїнові кислоти (НК)

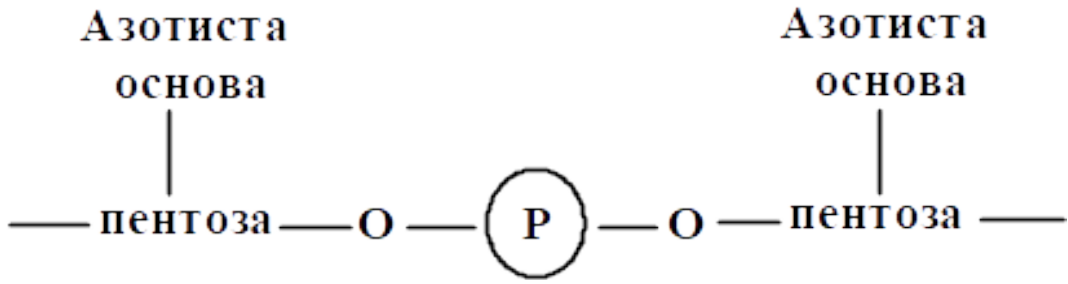
Нуклеїнові кислоти – це високомолекулярні сполуки біологічного походження, які складаються з мононуклеотидів, з'єднаних фосфодієфірним зв'язком

Первинна структура нуклеїнових кислот

Первинна структура нуклеїнових кислот – це полінуклеотидна послідовність.

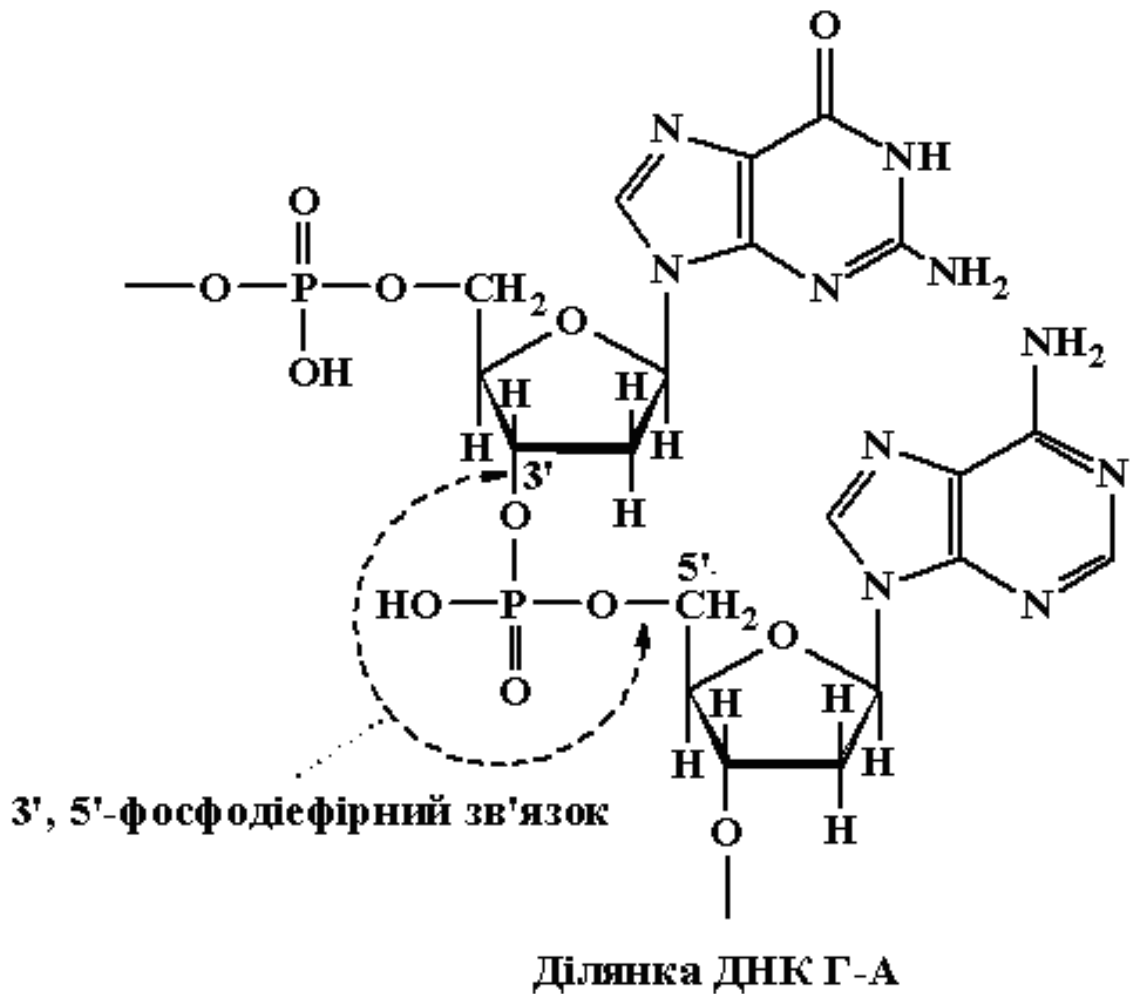
Особливості будови полінуклеотидного ланцюга:

- Полінуклеотидний ланцюг утворюється шляхом з'єднання залишку H_3PO_4 одного мононуклеотиду з 3'-ОН-групи другого.
- Полінуклеотидний ланцюг має два нерівноцінних кінця: 5'-кінець, де знаходиться фосфатна група, на другому кінці знаходиться вільна ОН-група біля карбону 3'.
- Фосфатна група утворює два складноєфірних зв'язки: з С-3' попереднього мононуклеотиду та з С-5' наступного.
- Схематично полінуклеотидний ланцюг можна показати таким чином:



- Полінуклеотидний ланцюг - нерозгалужений.

Схема полінуклеотидного ланцюга



Нуклеїнові кислоти оптично активні, обертають площину поляризації праворуч.

Виділяють НК із біологічного матеріалу екстракцією водними розчинами.

Існує два типи НК: РНК (рибонуклеїнова кислота) та ДНК (дезоксирибонуклеїнова кислота).

Рибонуклеїнова кислота (РНК)

Структурні компоненти РНК: азотисті основи – А, Г, Ц, У; вуглевод – рибоза; фосфатна кислота. Мономерна одиниця – рибонуклеотид.

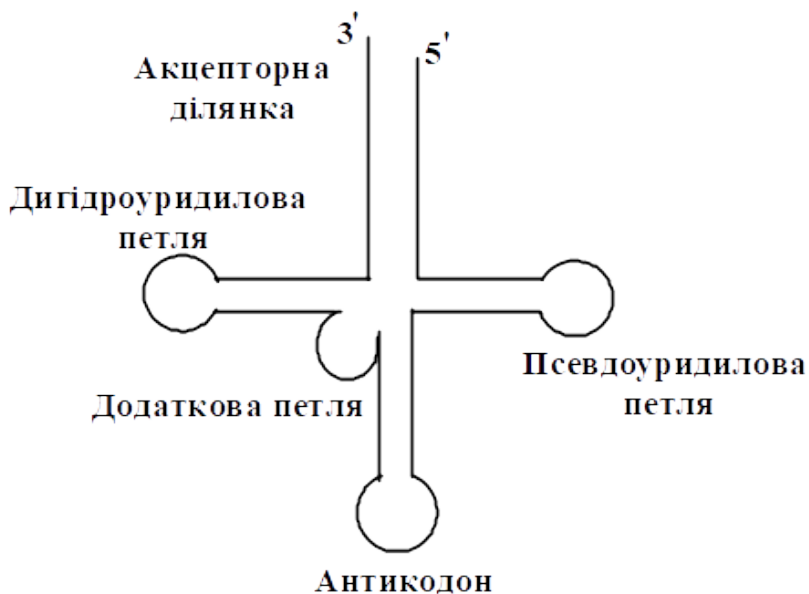
Хімічні властивості

1. Добре розчиняються у воді та слабких розчинах солей.
2. Із 1,5М-них розчинів солей випадають в осад.
3. Осаджуються спиртом.
4. Проявляють кислотні властивості.
5. Гідролізуються за рН <2 або >13 по Р-зв'язку.
6. Розщеплюється ферментом РНК-азою.
7. Існують три типи РНК, які беруть участь у синтезі білка, але виконують різні функції:

А. *інформаційна або матрична* – м-РНК (1-10% всіх РНК клітини); М.М. 2млн та більше; основна їх функція в передачі спадкової інформації від ДНК до місця синтезу білка – рибосомі.

Від нуклеотидної послідовності мРНК залежить первинна структура синтезованого білка. За синтез однієї амінокислоти відповідає *кодон*, тобто послідовність трьох нуклеотидів.

Б. *транспортна* – т-РНК (10-15%); М.М. 20000-30000. Молекули містять до 70 нуклеотидних одиниць, тобто молекули невеликі, тому дуже рухливі; розчинні у воді; вони активують (утворюють складнофірний зв'язок з амінокислотами) і транспортують амінокислоти до місця синтезу білків. Вторинна структура тРНК має конформацію листка



конюшини і містить такі частини: акцепторну гілку – зв'язує амінокислоти; антикодонову петлю – ділянка, яка містить триплет нуклеотидів (антикодон), що відповідає за взаємодію тРНК з комплементарним триплетом мРНК; дигідроуридилову, псевдоуридилову та додаткову петлі – необхідні для взаємодії тРНК з рибосомою.

В. *рибосомальна* – р-РНК (80%); М.М. 0,5-1,5млн; необхідна для синтезу білків.

Хімічно ці три типи РНК гомологічні, маючи ідентичний набір АО, будову нуклеотидів і характер міжнуклеотидних зв'язків. Вони розрізняються за ступенем полімерності їхніх ланцюгів, співвідношенням нуклеотидів,

нуклеотидною послідовністю. Кожна РНК складається з одного полінуклеотидного ланцюга, який на деяких ділянках закручується в спіраль.

Крім клітинних РНК існують вірусні РНК, які належать до нуклеопротеїдів. Вони складаються з РНК, оточених білковою оболонкою.

Дезоксирибонуклеїнова кислота (ДНК)

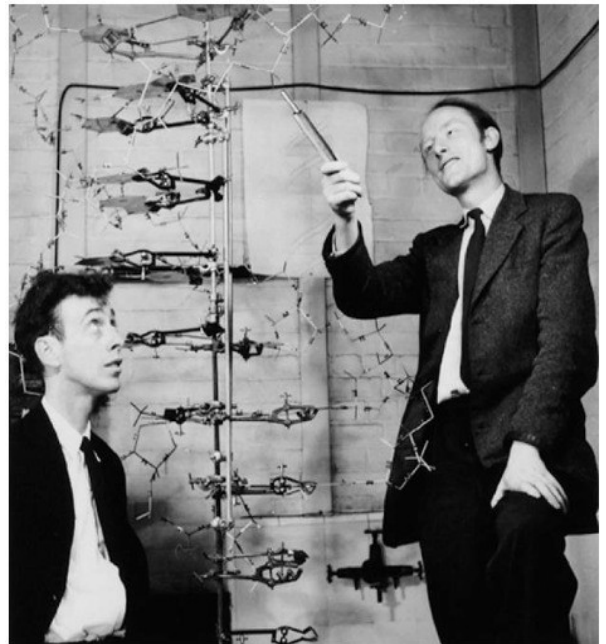
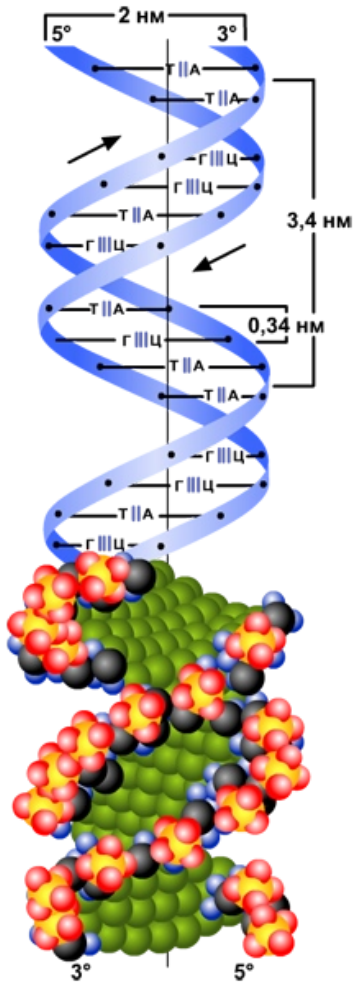
М.М. – 10^6 - 10^9 . Структурні компоненти ДНК: азотисті основи – А,Г,Ц,Т; вуглевод – дезоксирибоза; фосфатна кислота. Мономерна одиниця – дезоксирибонуклеотид.

Хімічні властивості

1. ДНК добре розчиняється у воді; в слабких та концентрованих водносолевих розчинах утворює в'язку рідину.
2. Осаджується етанолом.
3. Денатурує за 100°C , за рН 1-2 або 10-12.
4. Проявляє високу оптичну активність.
5. Гідролізується по Р-зв'язкам.
6. Має рідинно кристалічну структуру.

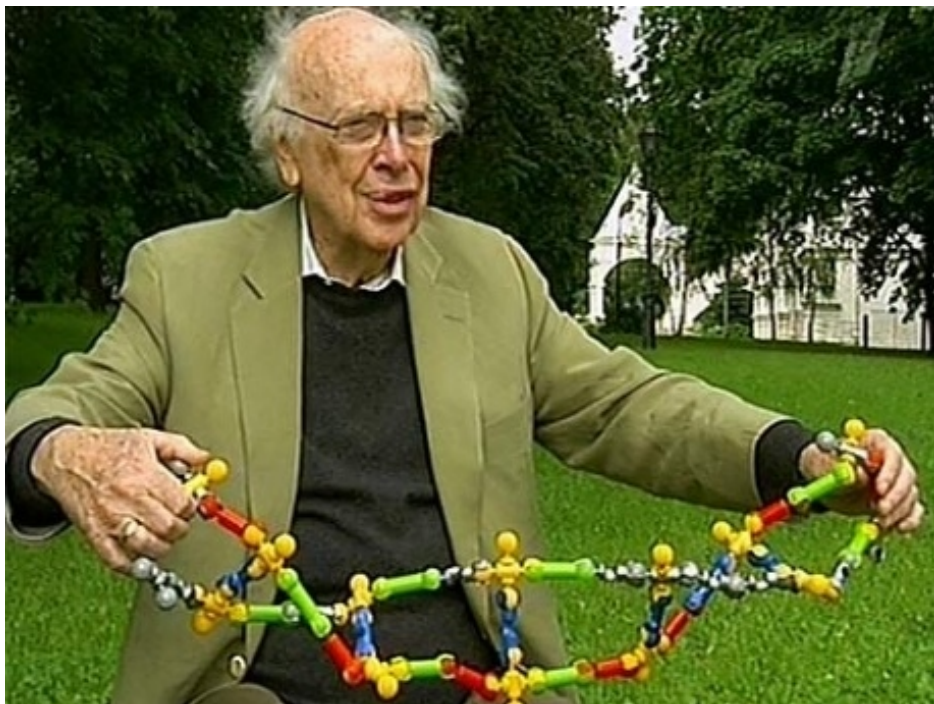
Особливості будови ДНК

Структура ДНК обумовлює її найскладнішу функцію – передачу спадкової інформації.



(інтернет доступ:
<http://www.znanius.com/4137.html>)

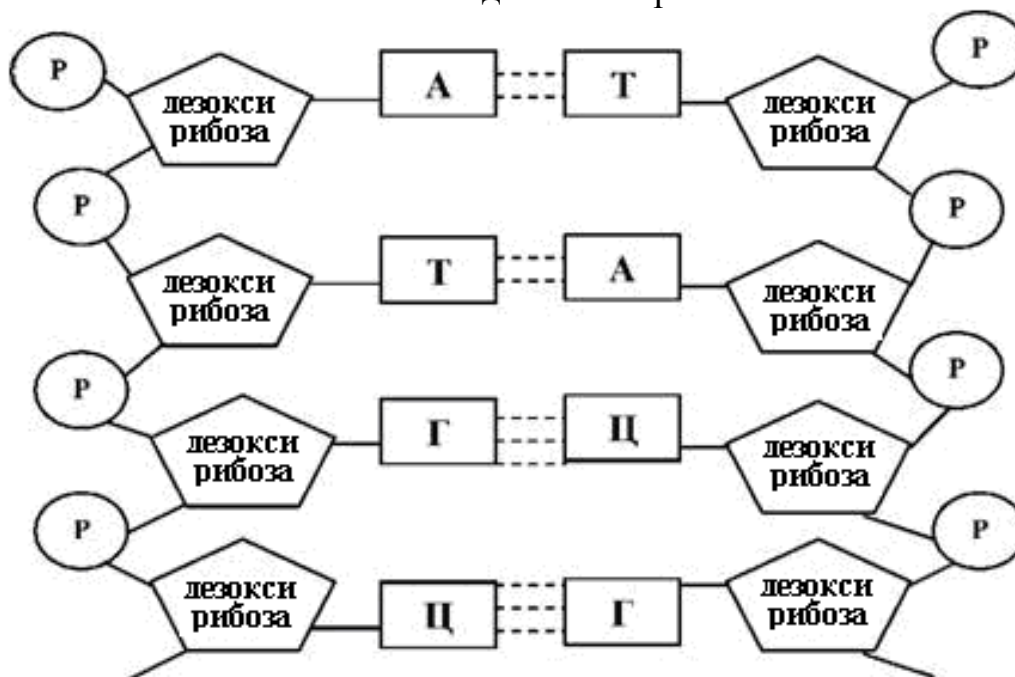
Дж. Уотсон та Ф. Крик на фоні моделі ДНК



Дж. Уотсон у 2010 р.

1. Молекула ДНК уявляє собою дві закручені праворуч спіралі. Це так звана «подвійна спіраль» Уотсона та Крика. Скелетом кожної спіралі слугує ланцюг із вуглеводних та фосфатних залишків
2. Азотисті основи направлені всередину, фосфатні залишки – назовні, тому вони гідролізуються першими (Полінг навпаки направляв вуглевод та фосфатний залишок всередину, а азотисті основи - назовні).

Схема подвійної спіралі



(інтернет доступ: http://pidruchniki.com/1439022149125/ekologiya/organichni_spoluki_nukleyinovi_kisloti)

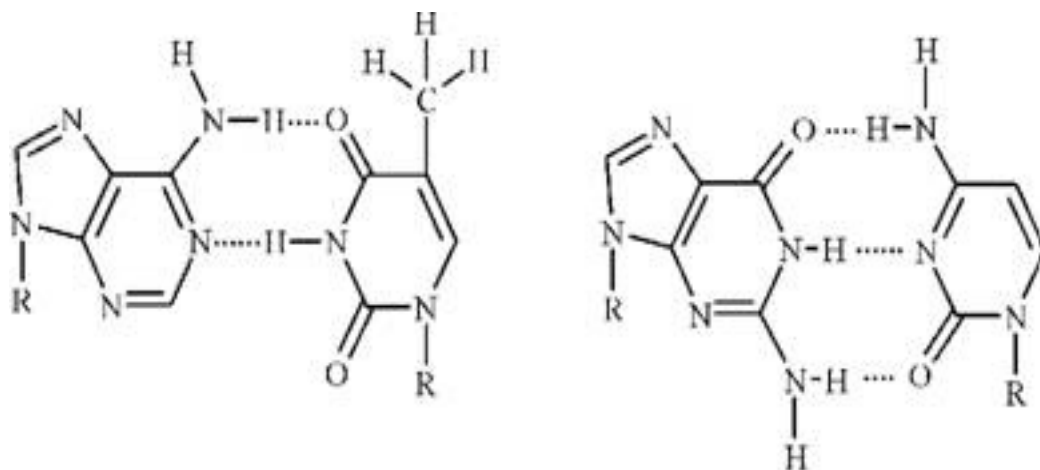
3. Молекула ДНК зберігає генетичну інформацію, тобто вона має бути міцною. Один ланцюг менш міцний, а подвійний – міцніший. Крім того, обидва ланцюга несуть однакову інформацію, тобто вона продубльована. Якщо в одному ланцюгу будуть будь-які порушення, то інформація береться з іншого.

4. АО – гідрофобні, а В та Ф –гідрофільні. Молекули ДНК знаходяться у водному середовищі, тобто В та Ф обумовлюють розчинність ДНК у воді (АО при цьому направлені всередину).

5. Кількість пуринових основ дорівнює кількості піримідинових, а саме кількість аденіну дорівнює кількості тиміну, кількість гуаніну дорівнює кількості цитозину.

6. Чому кількість основ однакова? Внаслідок геометрії молекул, тобто пуринові основи великі, а піримідинові – малі, молекула аденіну одного ланцюга утворює зв'язки з тиміном, а гуанін утворює зв'язки з цитозином, тому молекула ДНК має однаковий діаметр по всій довжині. Якби водневі зв'язки утворювали між собою великі пуринові основи, то діаметр спіралі був би більший, а якщо піримідинові – то ланцюги стягувалися б.

Аденін утворює два водневих зв'язки з тиміном, а гуанін утворює три водневих зв'язки з цитозином. Якби було навпаки (АЦ та ГТ), то зв'язків було б на два менше, і спіраль була би не такою міцною:

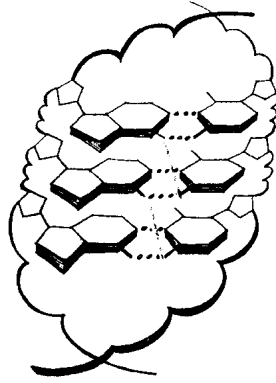


Такі пари основ А-Т та Г-Ц називаються *комплементарними* (Е.Чаргафф).

7. Один виток спіралі містить 10 мононуклеотидів. Довжина 1 витка або шагу спіралі становить 34Å . між площинами пар основ відстань – $3,4\text{Å}$. Ширина спіралі - 20Å . Спіраль найвигідніша в енергетичному відношенні розміщення в просторі. Під час розділення ядер клітин та розщеплення хромосом подвійна спіраль ДНК ділиться і відбувається зчитування інформації.

8. На деяких ділянках спіраль закручується ліворуч і утворює комплекси з білками.

9. Між азотистими основами утворюються також вертикальні водневі зв'язки, що робить структуру стійкішою, і вона менше піддається зовнішнім впливам.



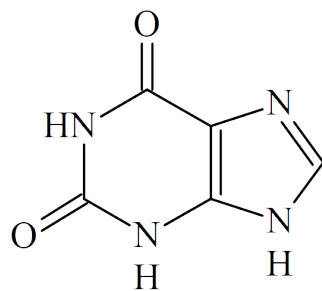
(за А.Клуг [26])

10. Під час старіння спіраль розкручується і припиняється синтез білків.

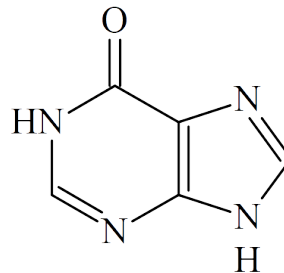
11. Частина цитозинів метильована, що необхідно для регуляції роботи деяких генів. Під час старіння число їх зменшується. Якщо втрачається ~20% метильованих цитозинів, то клітина гине. На підставі цього вчені розраховали життєвий ліміт для людини ~120 років.

В ракових клітинах кількість метильованих цитозинів не зменшується.

12. В молекулах ДНК може відбуватися *мутація*, тобто зміна нуклеотидної послідовності, наприклад, заміна ТА на ТГ. Результатом дії нітритної кислоти може бути заміна аденіну на гіпоксантин, який дає пару з цитозином, а цитозин переходить в урацил, гуанін – в ксантин.

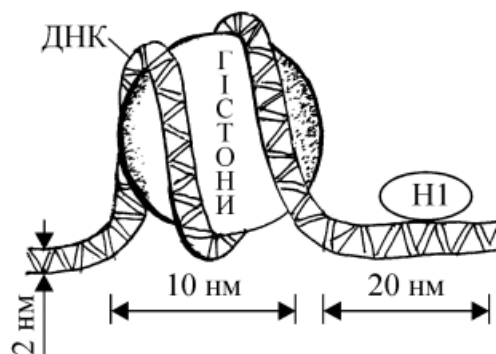


Гіпоксантин



Ксантин

13. Подвійна спіраль разом із білками утворює складні білки - нуклеопротейди. Білки розміщуються між двома спіралями. Зв'язок між білковою та полінуклеотидною частинами здійснюється завдяки кислотно-основній взаємодії між залишками фосфатної кислоти НК та аміногруп діаміномонокарбонових кислот поліпептидного ланцюга.



На даний час існують методи синтезу оліго- та полінуклеотидів, з використанням хімічних та ферментативних методів. Синтетичні оліго- та полінуклеотиди використовуються для вивчення структури та функцій НК, генетичної та білкової інженерії.

Контрольні питання

1. Що таке нуклеїнові кислоти?
2. Які структурні компоненти нуклеїнових кислот?
3. Які азотисті основи входять до складу РНК та ДНК?
4. Якими якісними реакціями можна довести наявність структурних компонентів нуклеїнових кислот?
5. Що таке нуклеозиди?
6. Написати формулу уридину та вказати тип зв'язку.
7. Написати формулу АТФ та вказати типи зв'язків.
8. Що таке нуклеотиди?
9. Написати будову ділянки ГУ та вказати типи зв'язків.
10. Чому ДНК має подвійну спіраль?