

НУКЛЕИНОВЫЕ КИСЛОТЫ, КАК МАТЕРИАЛЬНЫЕ НОСИТЕЛИ НАСЛЕДСТВЕННОСТИ

3.1. История открытия нуклеиновых кислот

В 1847 г. из экстракта мышц быка было выделено вещество, которое получило название «инозиновая кислота». Это соединение стало первым изученным нуклеотидом. В течение последующих десятилетий были установлены детали его химического строения. Было показано, что инозиновая кислота является рибозид-5'-фосфатом и содержит п-гликозидную связь

В 1868 г. швейцарским химиком Фридрихом Мишером при изучении некоторых биологических субстанций было открыто неизвестное ранее вещество, которое содержало фосфор и не разлагалось под действием протеолитических ферментов. Оно обладало выраженными кислотными свойствами и было названо «нуклеином». Соединению была приписана брутто-формула $C_{29}H_{49}N_9O_{22}P_3$.

Уилсон обратил внимание на практическую идентичность химического состава «нуклеина» и открытого «хроматина», на основании чего было выдвинуто предположение об особой роли «нуклеина» в передаче наследственной информации.

В 1889 г. Рихард Альтман ввел термин «нуклеиновая кислота», а также разработал удобный способ получения нуклеиновых кислот, не содержащих белковых примесей.

Фебус Левин и Уолтер Джейкобс, изучая продукты щелочного гидролиза нуклеиновых кислот, выделили их основные составляющие – нуклеотиды и нуклеозиды, а также предложили структурные формулы, описывающие их химические свойства.

В 1921 г. Левин выдвинул гипотезу «тетрануклеотидной структуры ДНК», оказавшуюся впоследствии ошибочной.

В 1935 г. Клейн и Танхаузер с помощью фермента фосфатазы провели мягкое фрагментирование ДНК, в результате чего были получены в кристаллическом состоянии четыре ДНК-образующих нуклеотида, что способствовало открытию новых возможностей для установления структуры этих соединений

В 1951 г. Чаргоффом была установлена закономерность содержания в нуклеиновых кислотах нуклеотидов разных типов, получившая впоследствии название правило Чаргоффа:

- сумма пуриновых оснований (А+Г) равна сумме пиримидиновых оснований (Т+Ц).
- видовая специфичность молекулы ДНК обуславливается числом нуклеотидов и порядком их чередования в данной молекуле.
- видовую специфичность молекулы ДНК определяют по коэффициенту специфичности:

$$КС = \frac{А+Т}{Г+Ц}, \text{ где}$$

А – количество адениновых нуклеотидов;

Т – количество тиминовых нуклеотидов;

Г – количество гуаниновых нуклеотидов;

Ц – количество цитозиновых нуклеотидов

1953 г. Уотсон и Крик установили вторичную структуру ДНК – двойная спираль.

3.2. Нуклеиновые кислоты и их классификация

Нуклеиновые кислоты – сложные высокомолекулярные соединения, имеющиеся во всех клетках живых организмов и являющиеся материальными носителями наследственной информации.

Функции:

1. Хранение наследственной информации;
2. Передача наследственной информации;

3. Реализация наследственной информации в ходе индивидуального развития каждого организма.

Нуклеиновые кислоты природные биополимеры, являющиеся продуктами реакции поликонденсации нуклеотидов и материальными носителями наследственной информации. Нуклеиновые кислоты входят в состав клеток всех живых существ на Земле.

Нуклеиновые кислоты делятся на:

1. Дезоксирибонуклеиновая кислота (ДНК);
2. Рибонуклеиновая кислота (РНК).

ДНК содержит всю генетическую информацию. Непосредственно в синтезе белка ДНК не участвует. Перенос генетической информации от ДНК к белкам выполняет РНК.

3.3. Строение ДНК и РНК

Английский ученый Ф. Крик и американский Дж. Уотсон (1953) обосновали представление о ДНК. По их мнению молекула ДНК состоит из двух нитей, спирально закрученных одна вокруг другой. Диаметр двойной спирали ДНК равен 2 нм, а расстояние между витками 3,4 нм. На каждый виток спирали приходится 10 пар нуклеотидов. Расстояние между азотистыми основаниями составляет 0,34 нм. Сахар и фосфат составляют основу продольных нитей, «перекладины» состоят из азотистых оснований. Азотистые основания – плотные кольцевидные соединения из атомов С и N (аденин, гуанин, тимин, цитозин). Одни и те же у всех видов организмов. ДНК разных видов различается порядком чередования указанных азотистых оснований. В состав белков входят 20 аминокислот. Каждой аминокислоте соответствует определенный триплет, т. е. три азотистых основания. Совокупность всех триплетов получила название генетического кода. Код одинаков у бактерий, вирусов, простейших, животных, человека, так как последовательность чередования триплетов в молекуле ДНК и молекуле определенного белка оказываются единственными во всем органическом мире. В этом единстве строения ДНК – величайшее единство органического мира. Азотистые основания в ДНК двух видов:

1. Двухкольцевые (пуриновые) – аденин, гуанин – 12 ангстрем;
2. Однокольцевые (пиримидиновые) – тимин, цитозин – 8 ангстрем.

Азотистые основания нуклеотидов заключены внутри между витками спирали ДНК и соединены водородными связями, которые требуют строгой парности оснований. Аденин связывается с Тиамином, Гуанин с Цитазином.

Английский биохимик Э. Чаргафф (1960), а затем советские ученые А.Н. Белозерский и А.С. Спирин показали, что в любой ткани растений и животных, в бактериальной клетке и вирусной частице, содержание молекул аденина равно содержанию молекул тимина, а содержание цитозина – содержанию гуанина. Это правило нуклеотидных отношений ($A + G/T + C = 1$), содержащее в основе строения всех ДНК получило название по имени автора – правило Чаргоффа. Сумма пуриновых оснований в любой молекуле равна сумме пиримидиновых оснований. Эта закономерность обоснована на большом количестве видов организмов. Она является доказательством того, что внутри спирали ДНК против каждого пуринового основания находится пиримидиновое и, наоборот. Согласно правилам Чаргоффа аденин одной цепи ДНК связан только с тимином другой, а гуанин только с цитозином. Пара аденин-тимин связана двумя водородными связями, а гуанин-цитозин – тремя. Такая закономерность соединения азотистых оснований называется комплементарностью, а азотистые основания комплементарными, т. е. взаимно дополняющими друг друга. Азотистые основания ориентированы к середине спирали. Для хромосом эукариотов характерно линейное строение молекулы ДНК, у прокариотов молекула ДНК замкнута в кольцо.

Комплементарность азотистых оснований в молекуле ДНК составляет главную сущность молекулярных основ наследственности и позволяет понять, как при делении клетки синтезируются тождественные молекулы ДНК.

Перед каждым удвоением хромосом и делением клетки происходит репликация (удвоение) ДНК. Репликацией называют процесс самокопирования молекулы ДНК с соблюдением порядка чередования нуклеотидов, присущего материнским комплементарным нитям.

Спиралевидная двухцепочная ДНК сначала расплетается (раскручивается) вдоль оси, водородные связи между азотистыми основаниями рвутся и цепи расходятся. Затем, к каждой цепи пристраиваются комплементарные азотистые основания и образуются две новые дочерние молекулы ДНК. Такой способ удвоения молекул, при котором каждая дочерняя молекула содержит одну материнскую и одну вновь синтезированную цепь, называют полуконсервативным.

Процесс репликации осуществляется с помощью ферментов, которые получили название ДНК-полимераз. Участок молекулы ДНК, в котором начали расплетаться комплементарные нити, называется вилкой репликации. Она образуется у прокариот в определенной генетически детерминированной точке. В молекуле ДНК у эукариот таких точек инициации репликации («стартовых точек») бывает несколько. У эукариот процесс репликации ДНК идет неодинаково. Объясняется это тем, что полинуклеотидные цепи в молекуле ДНК антипараллельны, т. е. 5'-конец одной цепи соединяется с 3'-концом другой, и наоборот. Материнская цепь, на которой синтез идет от точки старта 5'->3' в виде сплошной линии, называется лидирующей, а вторая цепь, на которой синтез идет от 3'->5' (в противоположном направлении) отдельными фрагментами получила название запаздывающей. Синтез этой цепи сложнее синтеза лидирующей цепи. Он протекает с участием фермента лигазы отдельными фрагментами. Эти фрагменты (участки кодовой нити ДНК) содержат у эукариот 100–200, а у прокариот 1000–2000 нуклеотидов. Они получили название фрагментов Оказаки, по имени открывшего их японского ученого.

Фрагмент ДНК от одной точки начала репликации до другой точки образует единицу репликации – репликон. Репликация начинается с определенной точки (локус *ori*) и продолжается до тех пор, пока весь репликон не будет дуплицирован. Молекулы ДНК прокариотических клеток содержат большое число репликонов, поэтому удвоение ДНК начинается в нескольких точках. В разных репликонах удвоение может идти в разное время или одновременно.

Репликация молекул ДНК у прокариот протекает несколько иначе, чем у эукариот. У прокариот одна из нитей ДНК разрывается и один конец ее прикрепляется к клеточной мембране, а на противоположном конце происходит синтез дочерних нитей. Такой синтез дочерних нитей ДНК получил название «катящегося обруча». Репликация ДНК протекает быстро. Так, у бактерии скорость репликации составляет 30 мкм в минуту. За минуту к нитке-матрице присоединяется около 500 нуклеотидов, у вирусов за это время – около 900 нуклеотидов. У эукариот процесс репликации протекает медленно. У них дочерняя нить удлиняется на 1,5–2,5 мкм в минуту.

ДНК всех живых существ устроен одинаково. ДНК разных видов различаются коэффициентом видоспецифичности, который представляет собой отношение молекулярной суммы А + Т к молекулярной сумме Г + Ц. Видоспецифичность ДНК выражается процентом или долей в ней ГЦ-пар. Коэффициент видовой специфичности разный у разных видов, но в общем наблюдается изменение ГЦ-пар от прокариот к эукариотам, а в пределах последних – от низших к более высокоорганизованным формам.

Углеводно-фосфатный остов по всей длине во всех молекулах ДНК имеет однотипную структуру и не несет генетической информации. Наследственная информация зашифрована различной последовательностью оснований. А если последовательность оснований определяет характер белков собаки, коровы, бактерии, вируса и т. д., то соответственная наследственность может передаваться из поколения в поколение.

Таким образом, в структурной организации молекулы ДНК можно выделить первичную структуру – полинуклеотидную цепь, вторичную структуру – две комплементарные друг другу полинуклеотидные цепи, соединенные водородными связями,

и третичную структуру – трехмерную спираль с определенными пространственными характеристиками.

Биологами доказано, что синтез белка происходит не в ядре, где локализована ДНК, а в цитоплазме.

Рибонуклеиновая кислота представляет собой полинуклеотидную цепь, состоящую из 4 разновидностей нуклеотидов, содержащих сахар рибозу, фосфат и одно из 4 азотистых оснований – аденин, гуанин, урацил, цитозин. Поэтому нуклеотиды молекулы РНК называются адениловой, гуаниловой, урациловой или цитидиловой кислотами. Молекулы РНК синтезируются на кодогенной цепи ДНК при помощи РНК-полимераз с соблюдением принципа комплементарности и антипараллельности. Особенностью является то, что аденину ДНК в РНК комплементарен урацил. Известно 3 основных вида РНК, действующих в клетке: информационная (и-РНК) или матричная, транспортная (т-РНК) и рибосомная (р-РНК).

Информация о синтезе белка с определенными свойствами заключена в нуклеотидной последовательности матричных или информационных РНК (и-РНК, м-РНК), которые, в свою очередь, синтезируются на определенных участках ДНК. Процесс синтеза м-РНК называют транскрипцией. Синтез м-РНК начинается с обнаружения РНК-полимеразы, участка в молекуле ДНК, называемого промотором. В этом участке РНК-полимераза раскручивает спираль ДНК и на одной из них фермент синтезирует м-РНК. Цепь, на которой происходит сборка молекул м-РНК, называют кодогенной. Сборка рибонуклеотидов в цепь происходит с соблюдением принципов комплементарности и антипараллельности, РНК-полимераза продвигается по кодогенной цепи ДНК и осуществляет синтез м-РНК до тех пор, пока не встречает на своем пути терминатор транскрипции (переписывания) – специфическую нуклеотидную последовательность. На участке расположения терминатора транскрипции РНК-полимераза отделяется от цепи ДНК и от синтезированной молекулы м-РНК. Промотор (участок молекулы ДНК), транскрибируемая последовательность и терминатор образуют единицу транскрипции под названием транскриптон. После прохождения РНК-полимеразы вдоль молекулы ДНК, пройденные участки объединяются снова в двойную спираль. Образовавшаяся матричная РНК содержит точную информацию о белке, записанную в определенном участке ДНК. Три рядом расположенных нуклеотидов м-РНК шифрует последовательность аминокислот в пептидной цепи белков. Каждому триплету (три нуклеотида – кодон) соответствуют определенные аминокислоты. Существует большое разнообразие и-РНК. Объясняется это тем, что в клетке много разнообразных белков, строение каждого из которых кодируется своим геном, с которого и-РНК считывает информацию.

Транспортные РНК характеризуются небольшими размерами. Они состоят из 75–90 нуклеотидов. В силу комплементарности разных участков они замкнуты на себя в нескольких местах, в результате чего вторичная структура представлена в виде клеверного листа с двухцепочным стеблем и тремя одноцепочными петлями. Известно более 60 т-РНК, которые отличаются между собой первичной структурой, т. е. последовательностью оснований. Каждая аминокислота присоединяется к определенной т-РНК. Характерной чертой т-РНК является наличие в головке средней петли трех нуклеотидов, получивших название антикодон. Антикодон комплементарен определенному кодону м-РНК. При помощи антикодона т-РНК, кооперируясь с соответствующим кодоном и-РНК, обеспечивает включение определенной аминокислоты в полипептидную цепь синтезируемого белка.

Наследственная информация, хранящаяся в молекулах ДНК, затем «записанная» на м-РНК, расшифровывается благодаря двум процессам. Сначала фермент аминоацил- т-РНК-синтетаза обеспечивает содержание т-РНК с транспортируемой ею аминокислотой, затем аминоацил т-РНК комплементарно соединяется с м-РНК благодаря взаимодействию антикодона с кодоном. Таким образом, с помощью т-РНК язык нуклеотидной цепи м-РНК переводится в язык аминокислотной последовательности пептида.

Предполагают, что боковые петли осуществляют связывание т-РНК с рибосомой и со специфической аминоацил- т-РНК-синтетазой.

Перевод генетической информации с языка нуклеотидов на язык аминокислот осуществляется на рибосомах. Рибосомы представляют собой сложные комплексы рибосомной рибонуклеиновой кислоты (р-РНК) и разнообразных белков. Рибосомная РНК является структурным компонентом рибосом и обеспечивает связывание и-РНК с рибосомой в процессе биосинтеза белка и взаимодействие ее с т-РНК. Рибосомная РНК накапливается в ядрышках, где происходит образование субчастиц рибосом путем объединения белков с р-РНК. Затем субчастицы рибосом транспортируются через поры ядерной мембраны в цитоплазму.

Рибосомная РНК имеет молекулярный вес 1,5–2 млн. и состоит из 4000–6000 нуклеотидов. Эта нуклеиновая кислота, входящая в состав рибосом, наряду с многочисленными белками выполняет не только структурную, но ферментативную роль.

3.4. Первичная структура ДНК и РНК

Первичную структуру ДНК и РНК составляет последовательность *нуклеотидов* в нуклеотидной цепи.

Специфическое чередование звеньев —*нуклеотидов*— определяет запись наследственной информации в клетках.

Молекулы углевода соединяются между собой в молекулу нуклеиновой кислоты остатками фосфорной кислоты.

Скелет полинуклеотидной цепи состоит из углеводных и фосфатных остатков, в которых гетероциклические азотистые основания соединены с углеводами посредством гликозидной связи (рис.26):



Рисунок 26. Строение полинуклеотидной цепи

Каждые три последовательно расположенных нуклеотида кодируют какую-то одну аминокислоту.

Порядок следования нуклеотидов в цепях ДНК каждого организма уникален, как уникальна и наследственная информация любого организма.

Нуклеотиды составлены из трёх соединенных друг с другом молекул: азотистого основания, пентозы и остатка фосфорной кислоты.

Самая главная принадлежит азотистым основаниям — именно они являются носителями наследственной информации.

Молекулы сахара играют структурную роль — они составляют остов, фундамент нуклеиновой кислоты.

С каждой молекулой сахара соединена одна молекула азотистого основания.

Разные молекулы сахара соединены между собой в единую гигантскую молекулу нуклеиновой кислоты остатками фосфорной кислоты.

В результате частичного гидролиза нуклеотидов происходит отщепление остатка фосфорной кислоты и образуются *нуклеозиды*.

Нуклеозиды – азотистые основания, соединенные ковалентной связью с остатком рибозы или дезоксирибозы, образуют *N-гликозиды*.

Нуклеотиды – нуклеозиды, в которых к 5'-гидроксильной группе моносахарида присоединены одна или несколько фосфатных групп.

Названия нуклеозидам дают по имени азотистого основания, входящего в их состав.

Например, нуклеозид аденозин включает аденин, тимидин – тимин, уридин – урацил.

3.5. Вторичная структура ДНК и РНК

В каждой паре оснований, связанных водородными связями, одно из оснований всегда пуриновое, другое – пиримидиновое.

Каждой паре оснований, связанных водородными связями, одно из оснований всегда пуриновое, другое – пиримидиновое. Строго определённые правила сочетания оснований в пары (комплементарность тимина аденину и цитозина гуанину) стали понятными после изучения размеров двойной спирали ДНК (рис. 27).

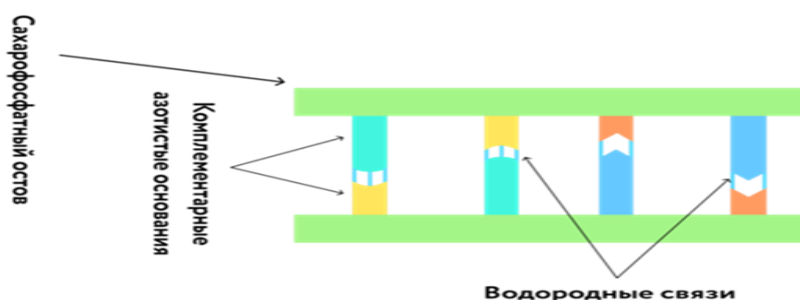


Рисунок 27. Схема строения ДНК

Строго определённые правила сочетания оснований в пары (комплементарность тимина аденину и цитозина гуанину) стали понятными после изучения размеров двойной спирали ДНК.

Диаметр двойной спирали по всей её длине постоянен.

Постоянство этого размера спирали может быть обеспечено лишь при единственном сочетании оснований в паре.

Только в том случае, когда тимин соединён с аденином, а цитозин с гуанином, получаются пары оснований одинаковой длины.

Двухспиральная структура с комплементарными полинуклеотидными цепями обуславливает возможность самоудвоения (репликации) молекулы ДНК.

Отдельные участки цепи РНК образуют спирализованные – петли «шпильки», образующиеся за счёт водородных связей между комплементарными азотистыми основаниями А-У и Г-Ц, т. е. в состав РНК вместо тимина входит другое, близкое ему по строению основание – урацил (У).

Участки цепи РНК в таких спиральных структурах антипараллельны, но не всегда полностью комплементарны, в них встречаются неспаренные нуклеотидные остатки или даже одноцепочечные петли, не вписывающиеся в двойную спираль.

Наличие спирализованных участков характерно для всех типов РНК.

3.6. Третичная структура ДНК и РНК

Суперспирализация ДНК – структурная форма двуцепочной молекулы ДНК, в которой она образует супервитки, пересекая при этом собственную ось. Суперспирализованная ДНК обладает большой энергией (рис. 28).

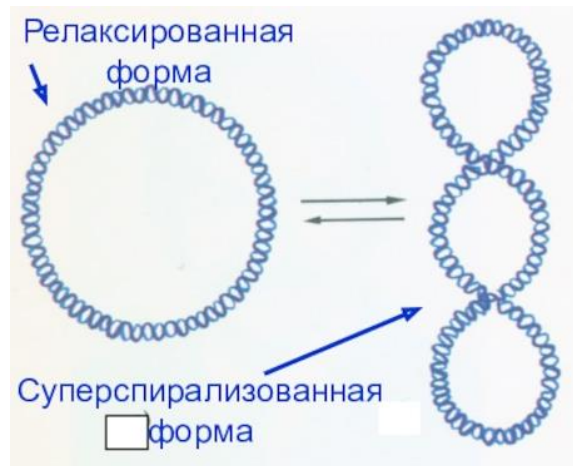


Рисунок 28. Формы ДНК

Характерна для хромосом высших организмов.

Третичная структура стабилизируется за счёт ковалентных связей с остатками аминокислот, входящих в состав тех белков, которые образуют нуклеопротеидный комплекс.

За счёт того, что молекула ДНК упакована в компактную структуру, она занимает 1/5 всего объёма клетки.

Например, длина ДНК хромосомы человека достигает 8 см, а упакована так, что уместается в хромосоме с длиной 5 нм.

Третичная структура РНК возникает за счёт взаимодействия спирализованных элементов вторичной структуры.

Так, возможно образование дополнительных водородных связей между нуклеотидными остатками, достаточно удалёнными друг от друга, или связей между – группами остатков рибозы и основаниями.

Третичная структура РНК стабилизируется ионами двухвалентных металлов, например ионами, связывающимися не только с фосфатными группами, но и с основаниями.

3.7. Отличительные особенности ДНК и РНК

1. ДНК содержит моносахарид дезоксирибозу, РНК – рибозу, у которой по сравнению с дезоксирибозой есть дополнительная гидроксильная группа.

Эта группа увеличивает вероятность гидролиза молекулы, т. е. уменьшает стабильность молекулы РНК.

2. Нуклеотидом, комплементарным аденину, в ДНК является тимин, а в РНК – урацил, представляющий собой неметилированную форму тимина.

3. ДНК существует в форме двойной спирали, состоящей из двух отдельных молекул, а молекулы РНК в среднем гораздо короче и преимущественно одноцепочечные.