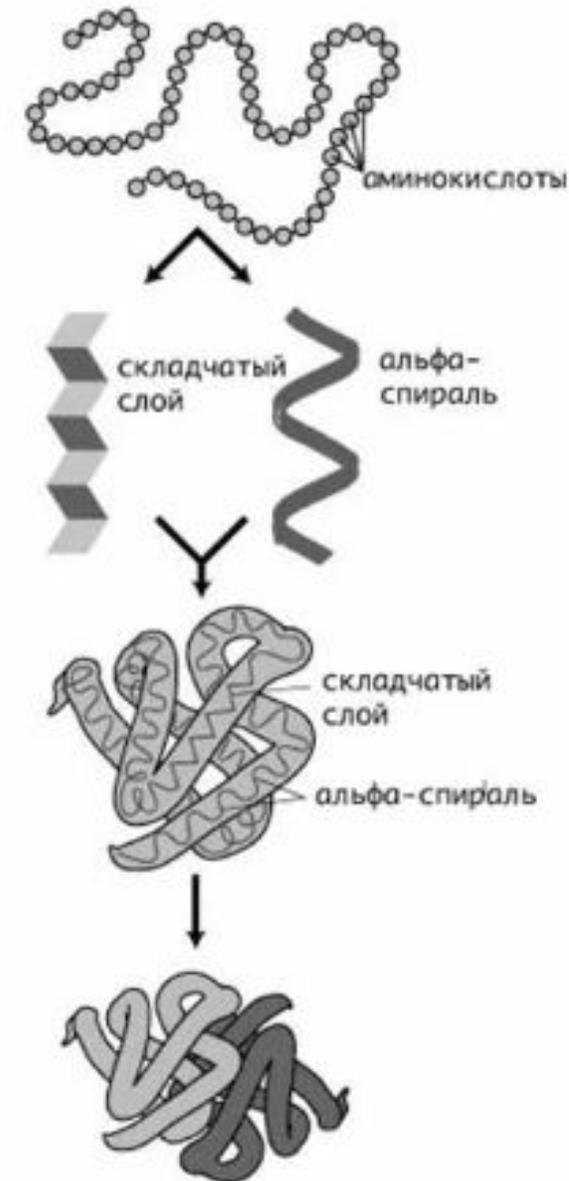


The background features a dark blue gradient with faint, light blue circular diagrams and a scale. The scale is a large arc on the left side, with numerical markings from 140 to 260 in increments of 10. Several circular diagrams are scattered across the background, some with arrows indicating a clockwise direction. The overall aesthetic is technical and scientific.

УРОВНИ СТРУКТУРНОЙ ОРГАНИЗАЦИИ БЕЛКОВ

Белки характеризуются несколькими уровнями структурной организации

- ✓ Первичная структура
- ✓ Вторичная структура
- ✓ Надвторичная (супервторичная) структура
- ✓ Третичная структура
- ✓ Четвертичная структура



Первичная структура

Первичная структура белка – последовательность аминокислотных остатков в молекуле белка, соединенных пептидными связями. Пептидные связи – это амидные связи, в образовании которых участвуют α – карбоксильные и α – аминогруппы соседних аминокислотных остатков (рис. 1-4)

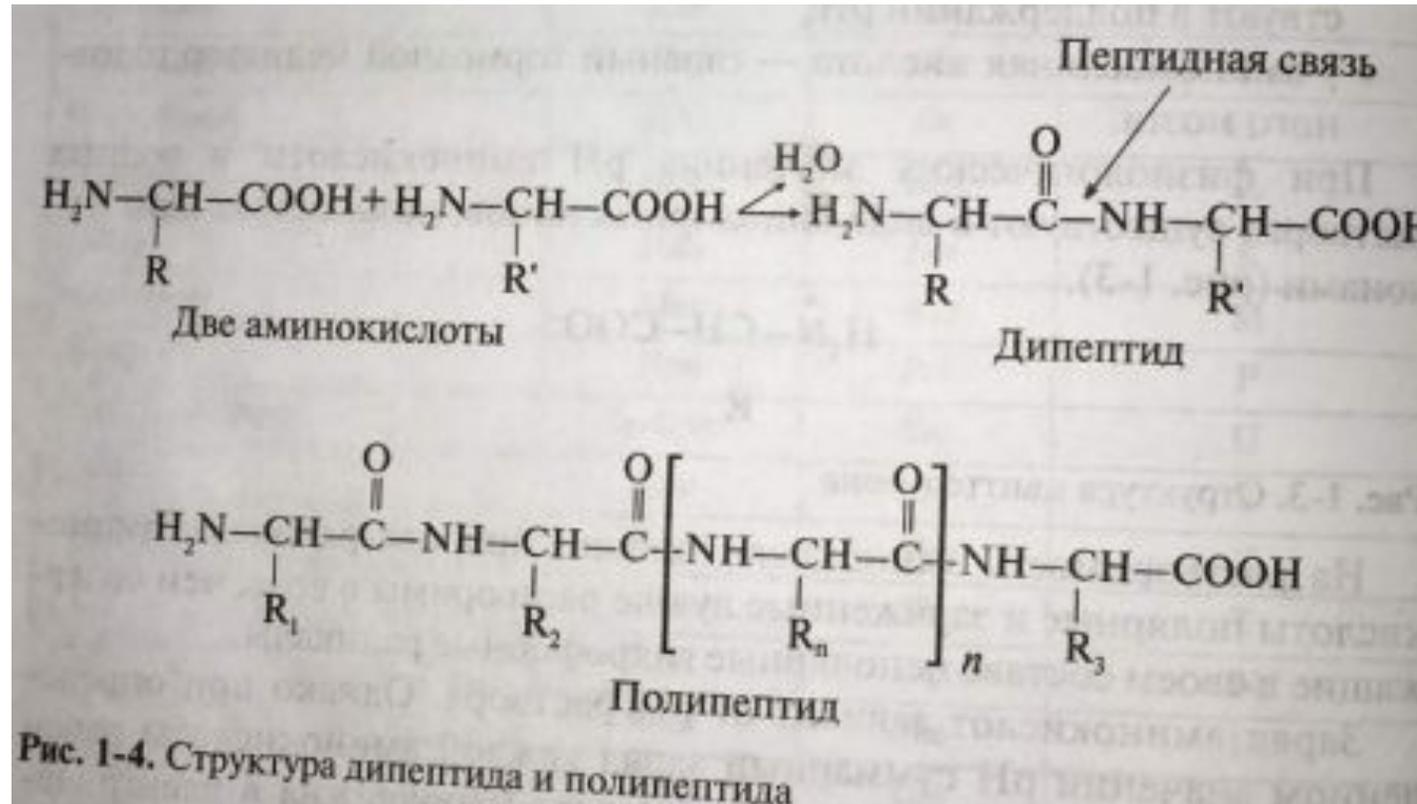


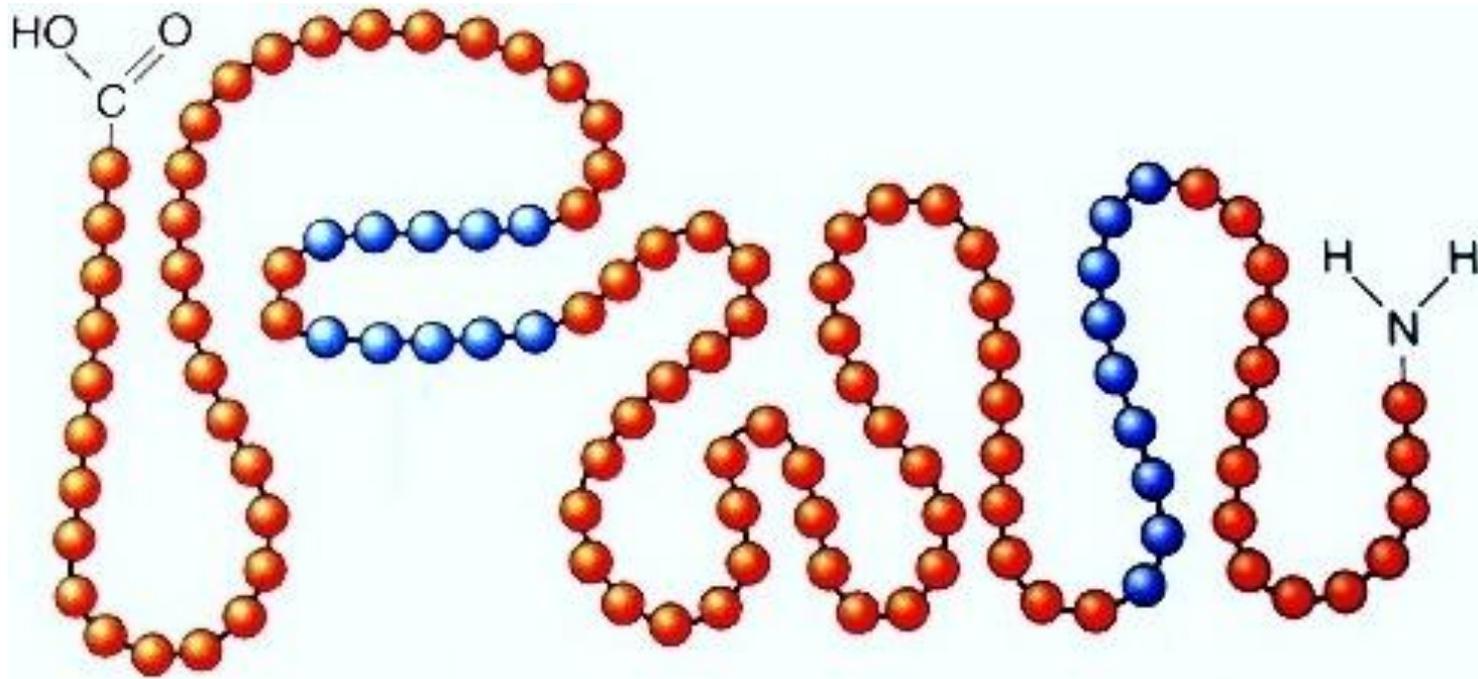
Рис. 1-4. Структура дипептида и полипептида

Пептидная связь очень прочная (так называемая полуторная связь), поэтому полный гидролиз белка до аминокислот в пробирке проводят только при очень жестких условиях кипячения в кислоте в течение 24-72 ч.

В отличие от остатков аминокислот, расположенных внутри полипептидной цепи, у концевых аминокислотных остатков молекулы белка в образовании полипептидных связей участвуют либо карбоксильная, либо аминогруппа. Другая группа остается свободной, поэтому в полипептидной цепи различают N- и C-концы, содержащие свободную амино- и карбоксильную группу, соответственно. Поскольку при биосинтезе белка в образовании первой пептидной связи участвует карбоксильная группа первой аминокислоты, нумерация аминокислотных остатков в полипептидной цепи идет от N-к C-концу.

Первичная структура уникальна для каждого белка. Информация о ней «записана» в структурных генах **дезоксирибонуклеиновой кислоты (ДНК)**.

Процесс установления первичной структуры белка получил название «секвенирование». Первоначально секвенирование проводили что называется вручную, осуществляя последовательный гидролиз пептидных связей исследуемого белка, и определяли концевые аминокислотные остатки с помощью различных химических реакций. Современные роботизированные приборы секвенаторы позволяют быстро установить аминокислотную последовательность, для чего необходимо не более 1 нг (0,000000001 г!) белка.



Вторичная структура

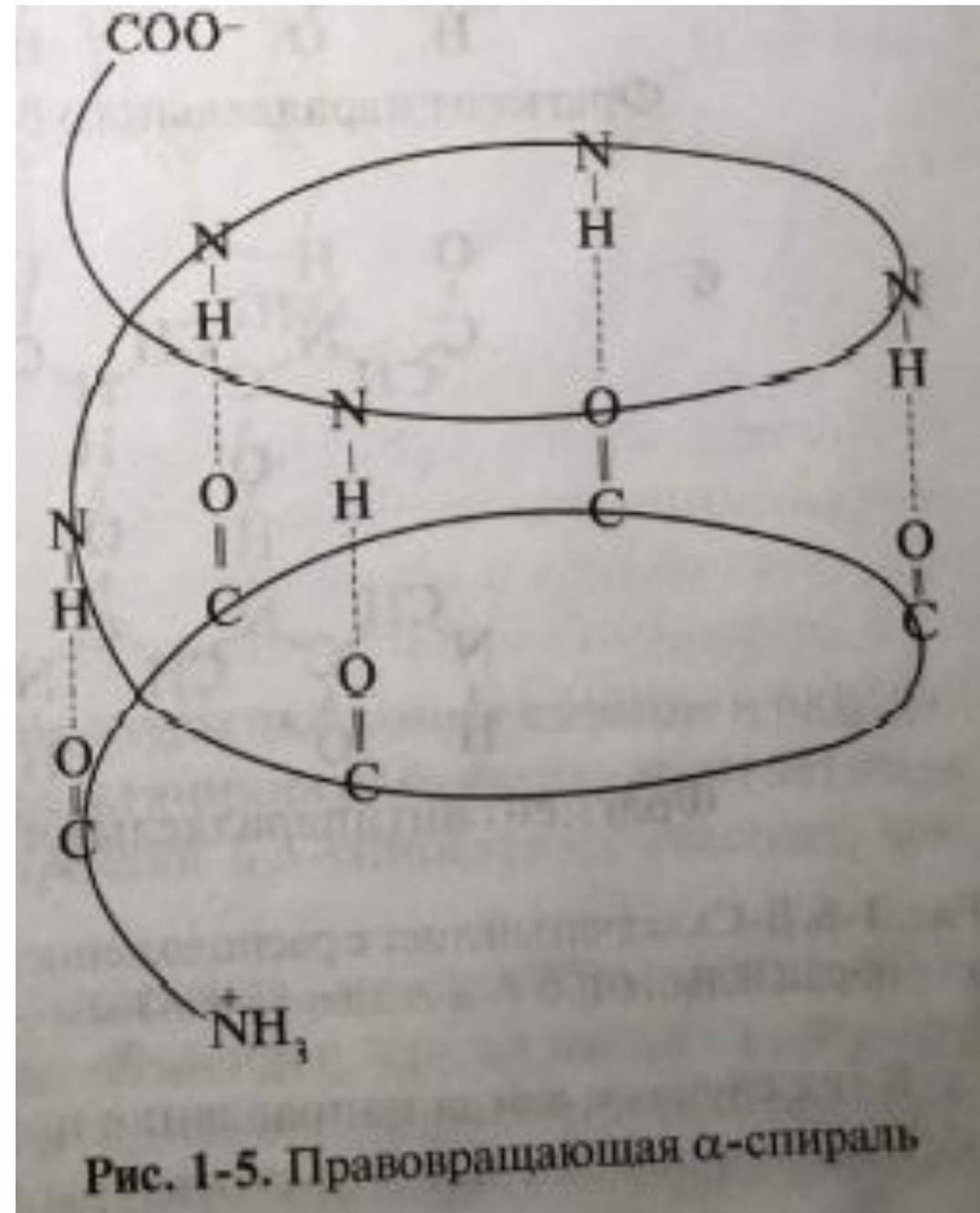
Белковые молекулы содержат множество пептидных связей, поляризованные ($-\text{C}=\text{O}^{\text{Q}-}$ и $-\text{NH}^{\text{Q}+}$ и $-\text{N}-\text{H}^{\text{Q}+}$) группы которых могут участвовать в образовании водородных связей с соответствующими ($-\text{N}-\text{H}^{\text{Q}+}$ и $-\text{C}=\text{O}^{\text{Q}-}$) группами той же или соседней полипептидной цепи. (Напомним, что символы « Q^+ » « Q^- » обозначают соответственно частичный положительный или отрицательный заряд на атоме.) Образование таких связей и формирует вторичную структуру белка.

Вторичной структурой называют регулярную, пространственно упорядоченную укладку полипептидной цепи молекулы белка или ее отдельных участков.

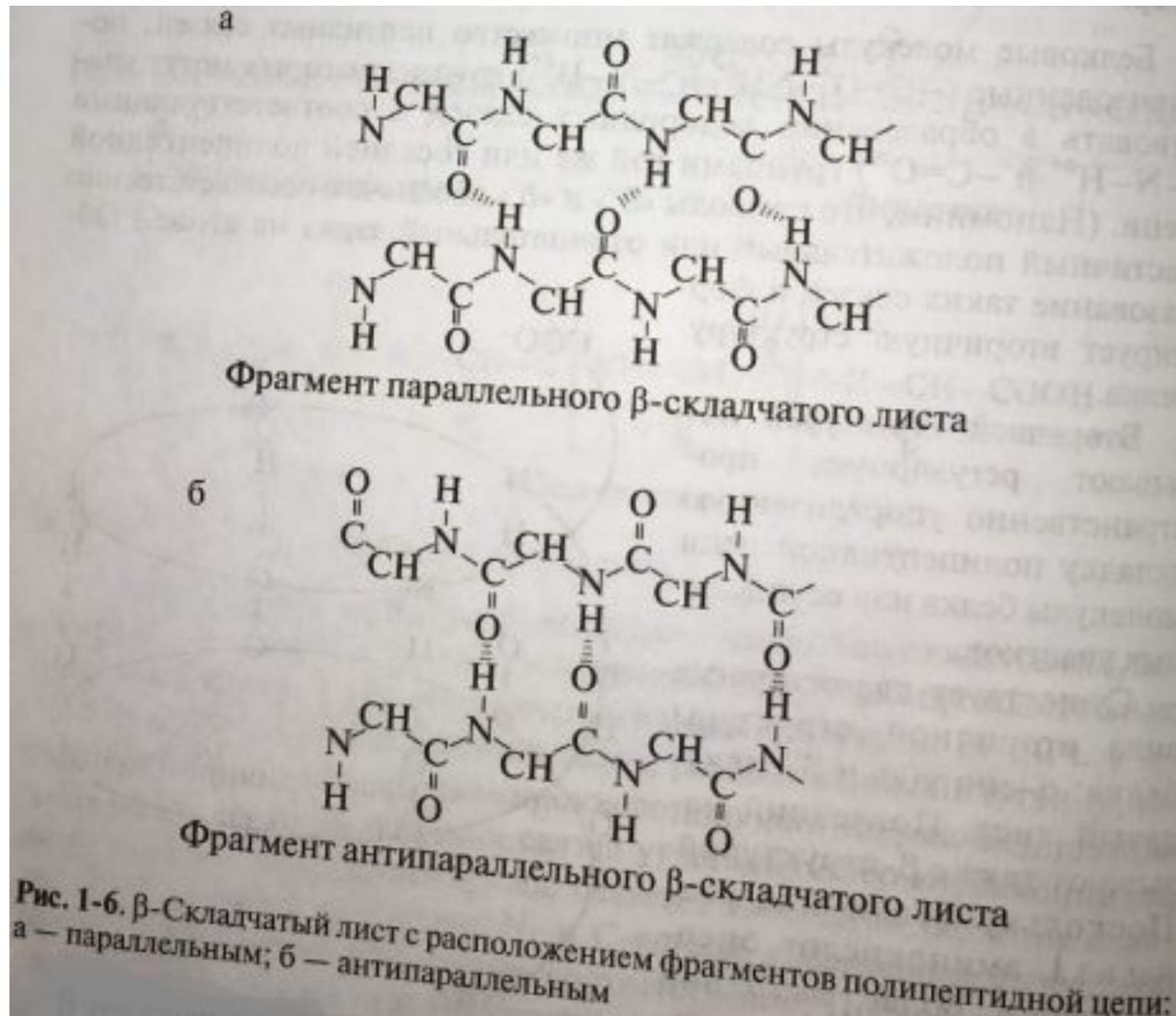
Существует два основных вида вторичной структуры белка: *a* – спираль и *B* – складчатый лист. Последний называют также *B*-структурой. Поскольку белки построены из L-аминокислот, энергетически более выгодной оказывается правовращающая спираль.

В α -спирали (рис. 1-5) каждая NH – группа полипептидного остова образует водородную связь ($-\text{C}=\text{O}^{\text{Q}-} \text{H}^{\text{Q}+} -\text{N}-$) с группой $-\text{C}=\text{O}$ четвертого от нее аминокислотного остатка, α -Спираль характеризуется следующими регулярными (т.е. повторяемыми у разных белков) параметрами:

- ✓ Один виток спирали образуют 3,6 аминокислотных остатка;
- ✓ Шаг спирали – расстояние между двумя соседними витками, которое составляет 0,54нм;
- ✓ Высота витка – 0,15 нм (см. рис. 1-5).



В образовании *B*-складчатого листа также участвуют водородные связи, образованные между $-C=O$ и $-N-H$ группами (рис. 1-6). *B*-Складчатый лист может образовываться как фрагментами одной соответствующим образом изогнутой полипептидной цепи, так и несколькими цепями, как это происходит в молекуле белка *B*-кератина.



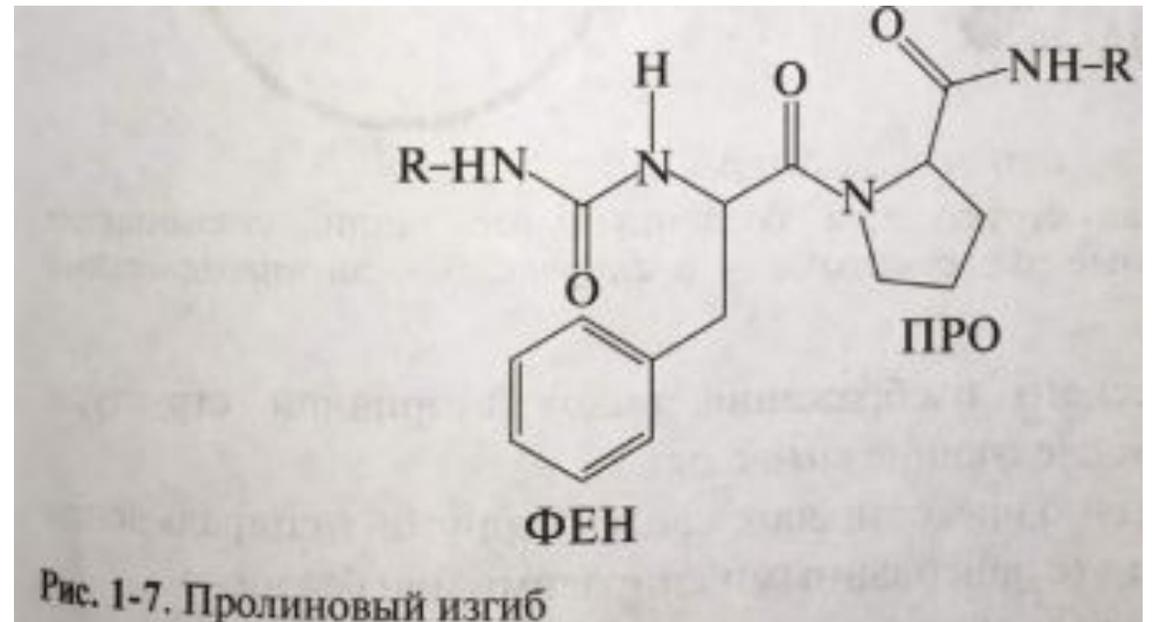
В тех случаях, когда направление полипептидных цепей одинаково, образуются параллельные *B*-структуры (см. рис. 1-6а), если же направление полипептидных цепей противоположно, образуются антипараллельные структуры (рис. 1-6б). В этом случае стабилизация структуры достигается уже не межцепочечными, а внутрицепочечными водородными связями.

Известны примеры белков, вторичная структура которых представлена только *α*-спирально (например, *α*-кератин волос) или *B*-складчатым листом (*B*-кератин волос и фиброин шелка). Однако гораздо чаще в природе (в том числе и у человека) встречаются белки, содержащие оба этих вида вторичных структур. В молекуле инсулина, например, в формировании *α*-спирали участвуют 51% аминокислотных остатков, а *B*-структуры – 24%.

Итак, за образование вторичной структуры отвечают $-C=O$ и $-NH$ группы пептидной связи. Однако необходимо отметить, что далеко не все аминокислотные остатки одинаково эффективно участвуют в формировании вторичной структуры.

Аминокислота пролин, например, после образования пептидной связи не содержит $-NH-$ группы и, следовательно, не может эффективно участвовать в формировании рассмотренных выше типов регулярных структур. Возникает так называемый пролиновый изгиб (рис. 1-7).

На стабильность вторичной структуры оказывают влияние и радикалы аминокислотных остатков. Так, у глицина роль радикала играет атом водорода, и его гораздо реже встречают в α -спиральных участках, чем аланин, глутамат или метионин.



Присутствие аминокислотных остатков, не способствующих формированию вторичной структуры, объясняет, что во многих глобулярных белках регулярные элементы вторичной структуры (α -спираль и β -складчатый лист) представлены сравнительно короткими фрагментами полипептидной цепи, разделенными нерегулярными **соединительными петлями** (рис.1-8). Этим термином обозначают фрагменты полипептидной цепи, которые нельзя отнести ни к α -спирали, ни к β -складчатому листу. Они могут отличаться по числу аминокислотных остатков, обеспечивающая поворот фрагмента полипептидной цепи на 180 градусов, получила название β -изгиб, или β -поворот. Она стабилизируется одной водородной связью, и ее образованию мешают объемные радикалы аминокислот. Вот почему именно глицин и пролин чаще всего оказываются в области β -изгиба. Существование β -изгиба и соединительных петель позволяет уложить элементы вторичной структуры в компактную глобулу.



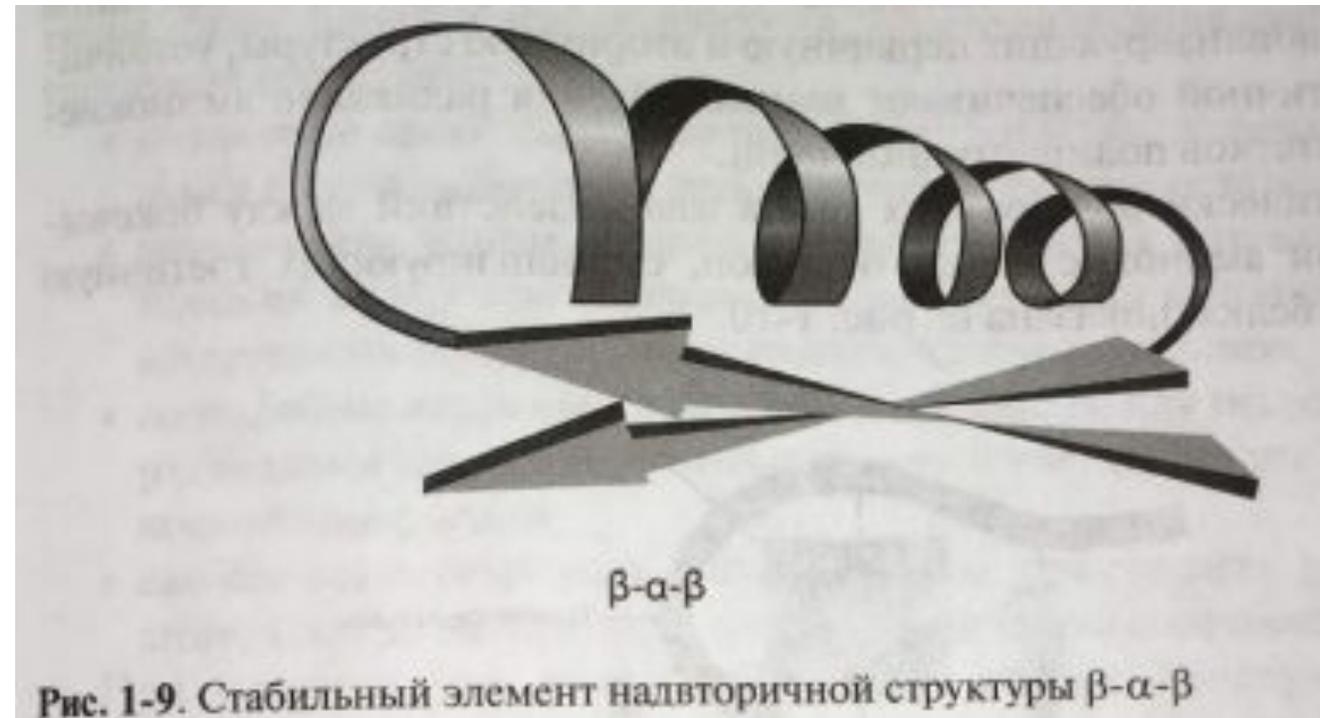
Для схематического изображения видов вторичной структуры обычно используют следующие символы:

- ✓ α -спираль обычно представляют в виде свернутой в спираль ленты или цилиндром (с врисованными спиралями или без них);
- ✓ β -структуру — разного рода стрелками.

В случае параллельных β -структур все стрелки ориентированы в одном направлении, а антипараллельных — в противоположном (см. рис. 1-8).

Надвторичная (супервторичная) структура

Следующий за вторичной структурой уровень организации белков получил название **надвторичной (супервторичной) структуры**. Так называют устойчивую комбинацию нескольких элементов вторичных структуры. В ее стабилизации уже участвуют боковые цепи аминокислотных остатков. Например, на рис. 1-9 схематически показана надвторичная структура *B-a-B*, стабилизацию которой обеспечивают гидрофобные аминокислотные остатки.



Надвторичная структура представляет промежуточный этап на пути формирования третичной структуры всей молекулы белка. При этом элементы вторичной структуры, образованные соседними участками полипептидной цепи, сворачиваются определенным образом в пространстве.

Во многих случаях, особенно когда речь идет о белках, насчитывающих в своем составе 200 аминокислотных остатков и более, обнаруживают несколько самостоятельных компактных структур, которые объединены в составе одной полипептидной цепи с помощью соединительных петель. Такие структуры получили название доменов. **Домен** – фрагмент полипептидной цепи, котором свойственна определенная автономия структурной организации

Зачастую домены могут формировать и поддерживать свою пространственную структуру независимо от других частей молекулы белка, и эта структура может существовать в автономном режиме

даже если ее вырезать из полипептидной цепи данного белка. Во многих случаях домены выполняют определенные функции. Например, у НАД⁺-зависимых дегидрогеназ есть домен, связывающий кофермент НАД⁺, необходим для осуществления окислительно – восстановительных реакций.

Третичная структура белка

Под **третичной структурой** понимают пространственное расположение всех атомов белковой молекулы.

Укладку, свойственную каждому белку, определяет вся сумма взаимодействий в белковой молекуле. Помимо уже рассмотренных типов связей, стабилизирующих первичную и вторичную структуры, устойчивость третичной обеспечивают взаимодействия радикалов аминокислотных остатков полипептидной цепи.

Схематически роль разных типов взаимодействий между боковыми цепями аминокислотных остатков, стабилизирующих третичную структуру белка, показана на рис. 1-10.

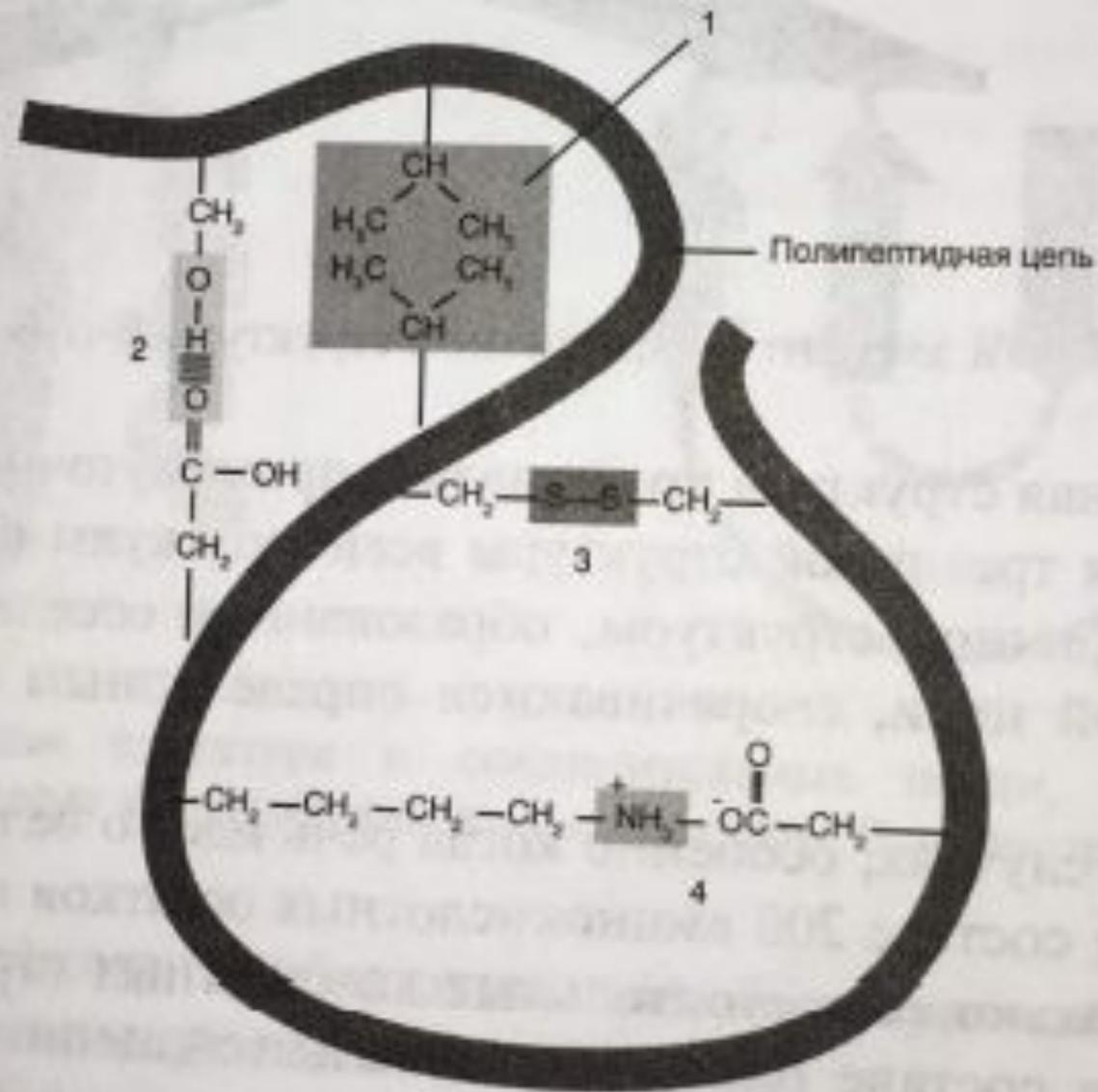


Рис. 1-10. Связи, стабилизирующие третичную структуру белка: 1 — гидрофобные взаимодействия; 2 — водородные связи; 3 — дисульфидные связи; 4 — ионные связи

Третичную структуру стабилизируют ковалентными **дисульфидными связями** (называют так же **дисульфидными мостиками**). Они образуются при взаимодействии дисульфидных групп (-SH) двух остатков цистеина. Даже нескольких дисульфидных связей оказывается достаточно для эффективной стабилизации третичной структуры белка. Например, в инсулине таких дисульфидных S-S – мостиков три, а в молекуле лизоцима – четыре. В то же время известно немало достаточно стабильных белков, в третичной структуре которых нет ни одной дисульфидной связи.

Стабильность третичной структуры белков придает вся совокупность нековалентных связей белковой молекулы. Существует несколько типов таких связей и взаимодействий, обеспечивающих стабильность третичной структуры:

- ✓ **Водородные связи**, образованные между многочисленными полярными группами боковых цепей аминокислотных остатков;

- ✓ **Ионные связи**, возникающие в результате электростатического притяжения между противоположно заряженными функциональными группами боковых цепей аминокислотных остатков;
- ✓ **Гидрофобные** взаимодействия, возникающие между гидрофобными радикалами аминокислотных остатков и уменьшающие их соприкосновение с водой;
- ✓ **Ван-дер-ваальсовы** силы, возникающие при тесном сближении атомов, когда их электронные оболочки почти соприкасаются.

При исследовании различных белков ученые обнаружили удивительный факт. Оказалось, что укладка (ее еще называют фолдом, а процесс сворачивания – фолдингом; от англ. Fold - сгибание) третичной структуры может быть сходной у полипептидных цепей, имеющих различные аминокислотные последовательности. Это связано с тем, что фолдинг регулярных элементов вторичной структуры (*α*-спиралей, *B*-структур) подчиняется определенным правилам, а различия в структуре и длине соединительных петель мало влияют на конечный фолд.

В зависимости от соотношения регулярных элементов вторичной структуры все типы пространственной структуры разделены на 4 основных класса:

- ✓ α -спиралей белки, преимущественно образованные из α -спиралей;
- ✓ B - складчатые белки, построенные в основном из B -складчатых листов;
- ✓ α/B – белки, укладка которых характеризуется чередованием α -спиральных и B -складчатых структур;
- ✓ $(\alpha+B)$ – белки, в которых не происходит чередование элементов вторичных структур, а α -спирали и B - листы сгруппированы таким образом, что в третичной структуре легко различаются чисто α -спиральные и B -складчатые участки.

Четвертичная структура

Под четвертичной структурой понимают укладку взаимодействующих между субъединиц в функционально активном белковом комплексе.

Субъединицы (или протомеры) представляют собой отдельные полипептидные цепи белка, уложенные в третичную структуру. Белки, состоящие из нескольких субъединиц, называют **олигомерными**. В зависимости от числа субъединиц, входящих в состав такого белка, выделяют **димеры** (состоящие из двух субъединиц), **тримеры** (из трех субъединиц), **тетрамеры** (из четырех субъединиц) и т.д. Если четвертичная структура образована одинаковыми субъединицами, то к названию олигомерного белка добавляют приставку гомо-, а если белок состоит из нескольких типов субъединиц – гетеро-.

В отличие от других уровней организации белковых молекул, в которых участвуют все атомы аминокислотных остатков полипептидной цепи, в большинстве случаев в формировании четвертичной структуры участвуют лишь отдельные участки белковой глобулы, на долю которых приходится не более 6-30% всей площади поверхности мономера.

Они и формируют **области межсубъединичных контактов**, которыми, как правило, и ограничивается взаимодействие субъединиц (рис. 1-11).

Межсубъединичные контакты стабилизируют все те же связи и взаимодействия, которые стабилизируют третичную структуру белка. При этом третичная структура значительно прочнее четвертичной, и под действием различных факторов происходит нарушение межсубъединичных контактов с диссоциацией олигомера на мономеры без нарушения третичной структуры последних.



Рис. 1-11. Межсубъединичные контакты схематично показаны пунктиром на «разрезе» тетрамерного белка

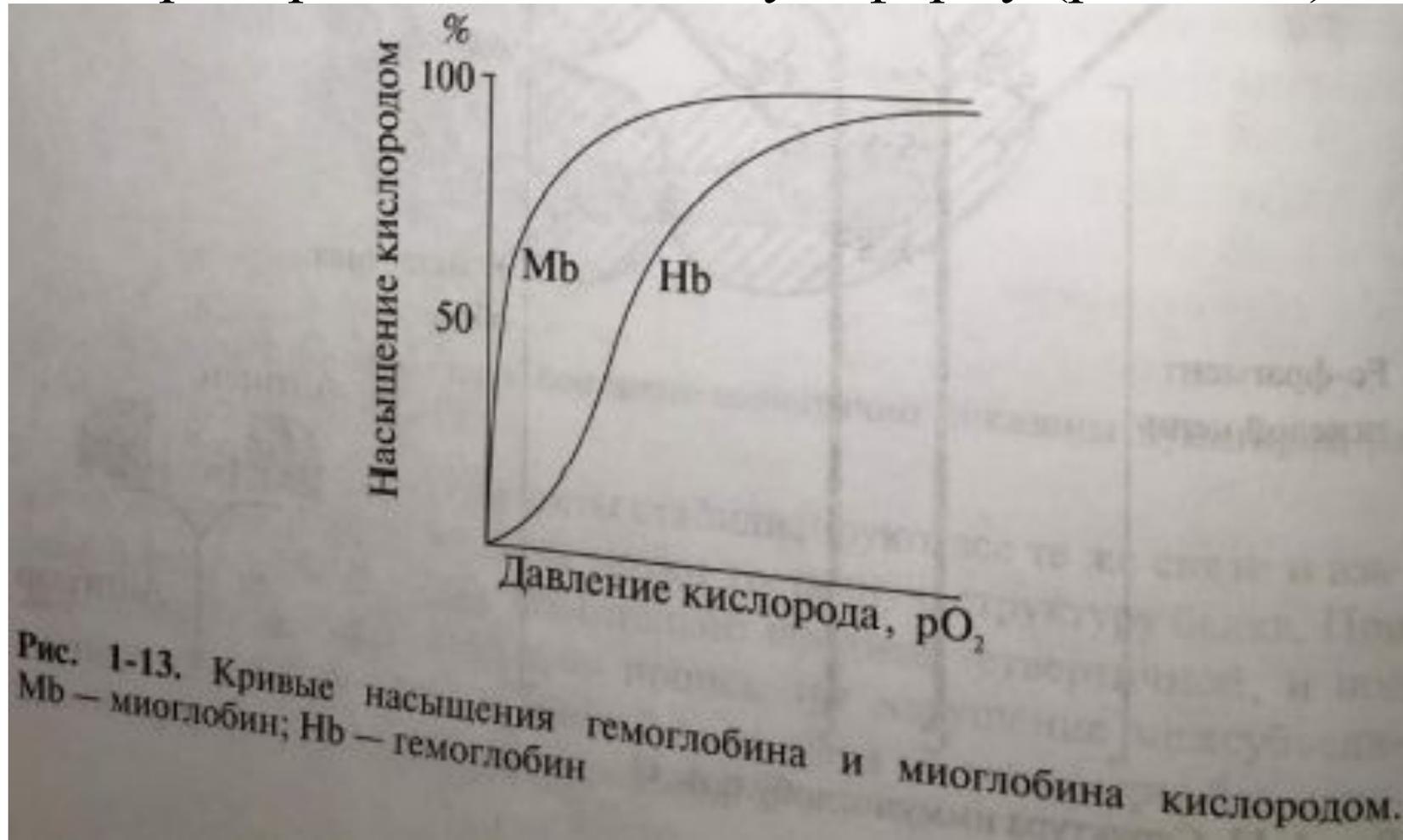
Несмотря на самостоятельность субъединиц в четвертичной структуре олигомерного белка, все они представляют «единую команду», выполняющую определенные функции.

- ✓ **Интеграция нескольких взаимосвязанных функций в единой структуре.** Например, синтез жирных кислот представляет собой димер каждой субъединице которого свойственны 7 различных функций (которые будут подробно рассмотрены в разделе, посвященном обмену липидов).
- ✓ **Обеспечение множественности контактов.** Эту функцию лучше всего иллюстрирует четвертичная структура антител, которые связывают антигены (так называют любую молекулу, способную вызвать иммунный ответ организма). Антитела, принадлежащие к иммуноглобулинам G, имеют Y-образную форму и состоят из 4 полипептидных цепей: двух легких L (от англ. Light - легкий) и двух тяжелых H (от англ. Heavy - тяжелый), соединительных дисульфидными связями (рис. 1-12). Поскольку на каждом конце луча формируется антигенсвязывающий центр, IgG имеет два одинаковых антигенсвязывающих центра. Это приводит к тому, что комплексы «антиген-антитело» характеризуются особой прочностью.

✓ **Формирование метаболических и транспортных туннелей.** В уже упоминаемой синтезе жирных кислот промежуточные продукты синтеза жирных кислот не высвобождаются во внутриклеточную среду, а передаются с одного участка молекулы на другой. Эффективность многостадийного процесса значительно возрастает.

✓ **Регуляторная функция.** Одним из классических примеров регуляторного взаимодействия субъединиц в олигомерном белке является гемоглобин. Этот тетрамерный белок состоит из двух *α*-субъединиц и двух *β*-субъединиц, каждая из которых содержит небелковую часть – гем. Гемоглобин осуществляет транспорт кислорода из легких к тканям. При присоединении молекулы кислорода к одной из субъединиц этого тетрамера происходит изменение третичной структуры данной субъединицы. В свою очередь это вызывает целый ряд структурных перестроек в соседних субъединицах, которые приводят к изменению четвертичной структуры всей молекулы.

В результате присоединения последующих молекул кислорода к остальным субъединицам происходит намного эффективнее. Этот эффект получил название «положительная кооперативность». За счет кооперативного связывания кислорода субъединицами гемоглобина кривая насыщения этого белка кислородом приобретает сигмовидную форму (рис. 1-13).



Субъединицы гемоглобина имеют третичную структуру, очень схожую с миоглобином – кислородпереносящим белком мышц, который принимает кислород от гемоглобина и доставляет его к клеткам. Однако миоглобин лишен четвертиной структуры, и его функция заключается в хранении кислорода в мышцах. Процесс насыщения миоглобина кислородом описывается простой гиперболической кривой. Полное насыщение миоглобина происходит при очень низком парциальном давлении кислорода, свойственном тканям (см. рис 1-13).

Таким образом, четвертичная структура гемоглобина позволяет регулировать присоединение и отсоединение кислорода. Это и обусловило разграничение полномочий между двумя кислородтранспортными белками: гемоглобин легче принимает кислород в легких и отдает его в капиллярах при понижении парциального давления, а миоглобин, благодаря высокой степени насыщения при низком парциальном давлении, обеспечивает хранение кислорода в мышечных клетках.

Надмолекулярные комплексы

Четвертичная структура имеет ряд преимуществ, которые были рассмотрены в предыдущем разделе. Как оказалось, многие белки, в том числе и имеющие четвертичную структуру, образуют более сложные надмолекулярные комплексы, которые обеспечивают эффективное протекание самых разных процессов в клетке. К их числу относят, например, комплексы дыхательной цепи митохондрий, ответственные за преобразованием энергии в клетке и синтезе АТФ.

Надмолекулярным комплексам также свойственна определенная стабильность структуры, которую обеспечивают все ранее рассмотренные связи и взаимодействия.

Денатурация и ренатурация белка

Денатурация – нарушение третичной и вторичной структур белка, приводящее к утрате его биологических функций и физико-химических свойств. При этом не происходит нарушения первичной структуры белка.

Денатурацию белка вызывают различные физико-химические факторы, такие как, высокая температура, резкое изменение рН среды, органические растворители, соли тяжелых металлов, высокие концентрации ряда соединений (например, гуанидина хлорида или мочевины). Их часто называют **денатурирующими агентами**.

Денатурация – сложный процесс, который во многом определен свойствами денатурирующего агента. Общим является то, что в ходе денатурации происходит нарушение системы нековалентных взаимодействий, определяющих образование вторичной и третичной структур белка. Например, мочевина ($\text{H}_2\text{N}-\text{CO}-\text{NH}_2$), а так же гуанидин гидрохлорид имитируют элементы пептидной связи и, конкурируя с

последними, вызывают нарушение системы водородных связей. В результате этого происходит разупорядочивание структуры белковой молекулы. Органические растворители вызывают нарушение гидрофобных взаимодействий неполярных радикалов аминокислотных остатков, способствуя дестабилизации гидрофобного ядра. Кроме того, полярные группы спиртов вызывают нарушение водородных связей, участвующих в формировании третичной структуры.

Ренатурация – процесс восстановления пространственной структуры белка и его биологической функции, наблюдаемый после прекращения действия и удаления денатурирующего агента.

При медленном удалении денатурирующего агента и реагентов, необходимых для поддержания сульфгидрильных групп в восстановленном состоянии (и препятствующих формированию – S-S-связей), могут произойти самопроизвольное сворачивание (**рефолдинг**) белковой молекулы, формирование нативной пространственной структуры и возникновение биологической активности, свойственной данному белку (рис. 1-14).

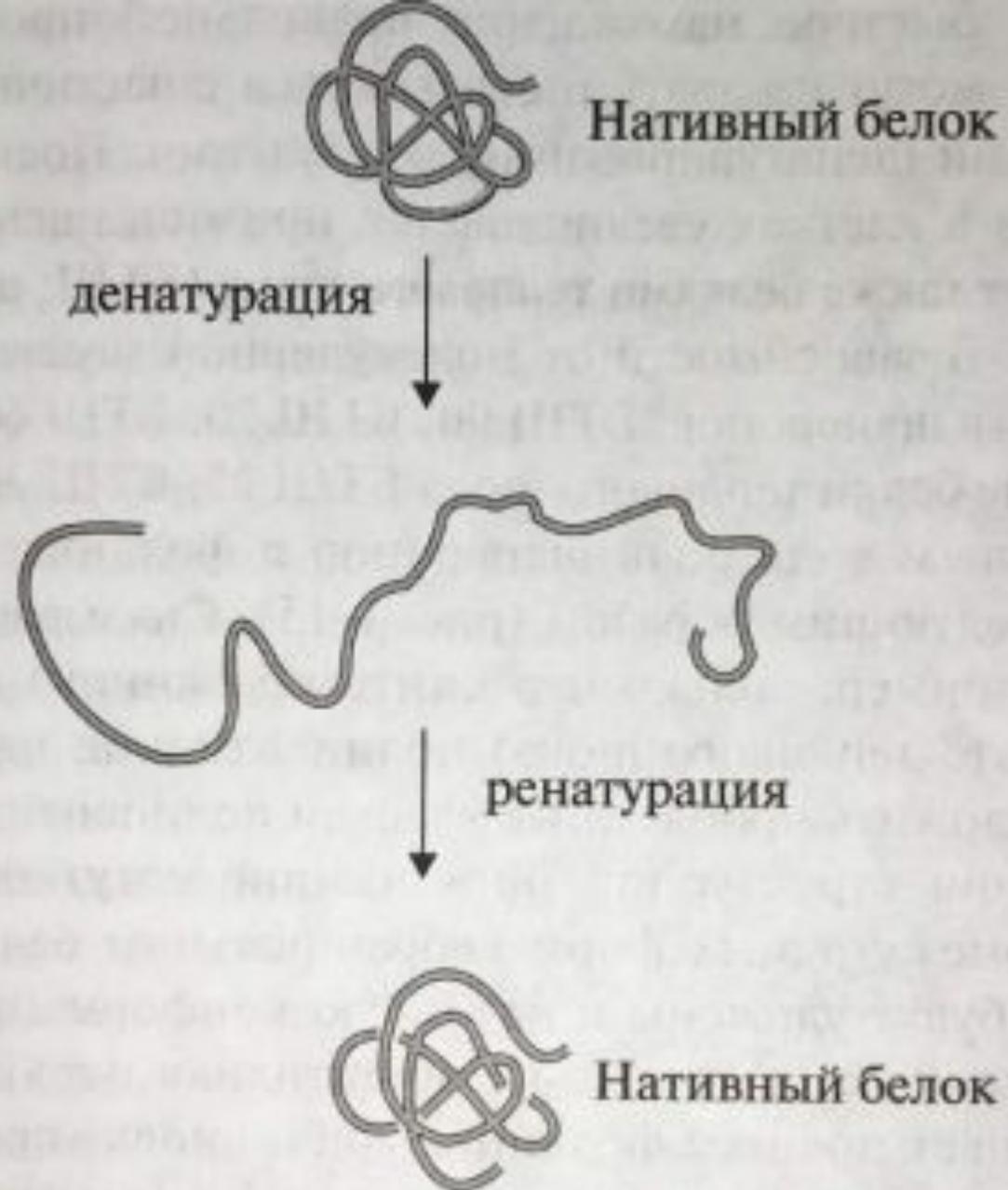


Рис. 1-14. Денатурация/ренатурация белка (схема)

Наиболее демонстративным приемом успешной ренатурации считают рефолдинг *in vitro* фермента панкреатической рибонуклеазы, денатурированной под действием высоких концентраций мочевины или гуанидинга не превышала 1%, в ходе ренатурации происходило восстановление структуры практически у всех молекул фермента, подвергнутых денатурации.

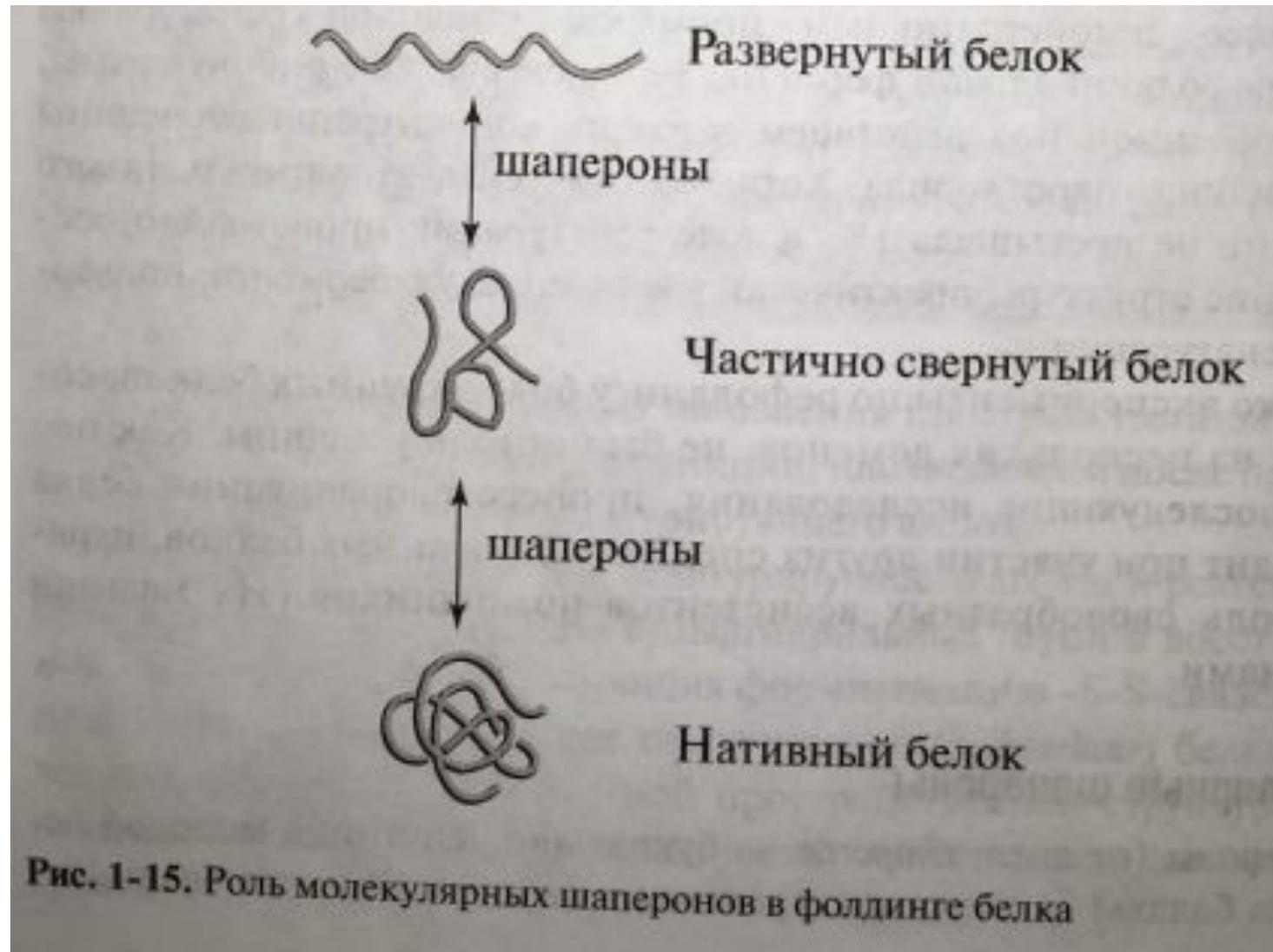
Однако эксперименты по рефолдингу более крупных белков, состоящих из нескольких доменов, не были столь успешны. Как показали последующие исследования, процесс сворачивания белка, играющих роль своеобразных ассистентов-помощников. Их называли **шамеронами**.

Молекулярные шапероны

Шапероны – специализированные внутриклеточные белки, ответственные за быстрое нахождение правильной пространственной структуры. Они могут узнавать и связываться с частично свернутыми или развернутыми (денатурированными) белками. Поскольку количество шаперонов в клетках увеличивается при повышении температуры, их называют также **белками теплового шока**. В зависимости от молекулярной массы выделяют несколько семейств шаперонов: БТШ 90, БТШ 70, БТШ 60, а также низкомолекулярные белки теплового шока БТШ 25, БТШ 20 и т.д.

В самом общем виде роль шаперонов и в фолдинге белка можно представить следующим образом (рис. 1-15). Связываясь с частично свернутой (например, только что синтезированной) или развернутой (в результате теплового шока) полипептидной цепью, шапероны помогают уложить проблемные участки полипептидной цепи.

По мере усложнения структурной организации образовываться несколько промежуточных форм сворачиваемого белка, которые в конце концов будут уложены в нативную конформацию белка. После высвобождения с шаперонами полипептидная цепь либо самостоятельно завершает процесс фолдинга, либо вновь «просит помощи» у шаперона, который помогает завершить формирование нативной структуры белка.



Прионы – белки, которые могут находиться в одной из двух различных конформаций. В третичной структуре нормального прионового белка преобладают *α*-спиральные элементы, а на долю *β*-структур приходится не более 3%. В третичной структуре патогенного двойника, имеющего ту же аминокислотную последовательность, преобладают *β*-складчатые листы. Это защищает патологический белок от расщепления под действием протеолитических ферментов и способствует его накоплению в клетках. Устойчивый к протеолизу белок, изменяя третичную структуру последнего. Это способствует быстрому накоплению патогенного прионового белка PrP^{Sc}.

Шансы на самопроизвольные превращение нормального зрелого белка PrP^c в патогенный PrP^{Sc} ничтожно малы (1 случай на млн), и наследственные формы прионовых болезней встречаются также очень редко. Гораздо большее значение в возникновении таких заболеваний придают употреблению с пищей мяса крупного рогатого скота, страдающего болезнью коровьего бешенства, которое вызывают прионы.

Нуклеиновые кислоты

Нуклеиновые кислоты - это водорастворимые высокомолекулярные соединения, макромолекулы которых состоят из многократно повторяющихся звеньев - **нуклеотидов**. Поэтому их также называют **полинуклеотидами**.

Впервые они были обнаружены в 1868 году швейцарским врачом Мишером в ядрах погибших лейкоцитов, что и определило их название (от лат. *nucleus* - ядро).

По химическому строению нуклеиновые кислоты - биологические полимеры, состоящие из остатков фосфорной кислоты, моносахарида и одного из пуриновых или пиримидиновых гетероциклических оснований. Входящие в состав нуклеиновых кислот гетероциклические соединения пуринового и пиримидинового ряда называют **нуклеиновыми основаниями** или просто **основаниями**.

В общем виде молекулу нуклеиновой кислоты можно представить следующим образом:



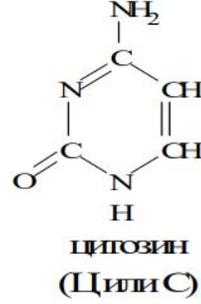
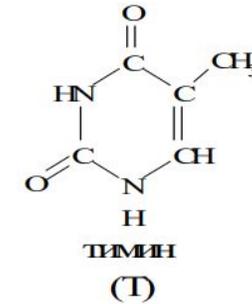
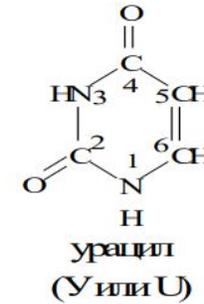
Фрагмент макромолекулы нуклеиновой кислоты моносахарид-основание называется нуклеозидом, а фрагмент моносахарид-основание-фосфат - нуклеотидом. Нуклеиновые кислоты присутствуют в клетках всех живых организмов и выполняют важнейшие функции по хранению, передаче и реализации наследственной информации. Особенность нуклеиновых кислот заключается в том, что обычно «неделимое» мономерное звено в полинуклеотидах может быть разделено на составные части: нуклеотиды и нуклеозиды, которые помимо того, что служат строительными блоками при синтезе нуклеиновых кислот, играют и вполне самостоятельную роль в процессах обмена веществ, а также участвуют в качестве коферментов в реакциях переноса остатков сахаров, аминов и других биомолекул

Компоненты нуклеиновых кислот

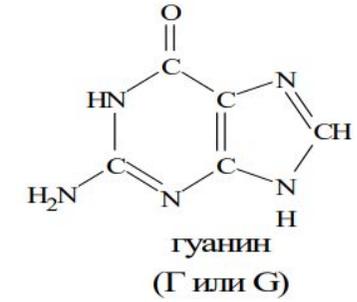
Азотистые основания.

В состав нуклеиновых кислот входят гетероциклические основания пиримидинового ряда: урацил, тимин, цитозин и пуринового ряда аденин и гуанин. Для удобства используют однобуквенные обозначения (символы) гетероциклических оснований (русские или латинские). Нумерация атомов производится в указанном порядке. Отметим также, что в физиологических условиях нуклеиновые основания существуют только в лактамной и аминной формах. Во всех формах гетероциклы сохраняют ароматичность и имеют плоское строение, благодаря чему отличаются высокой термодинамической стабильностью.

Пиримидиновые основания

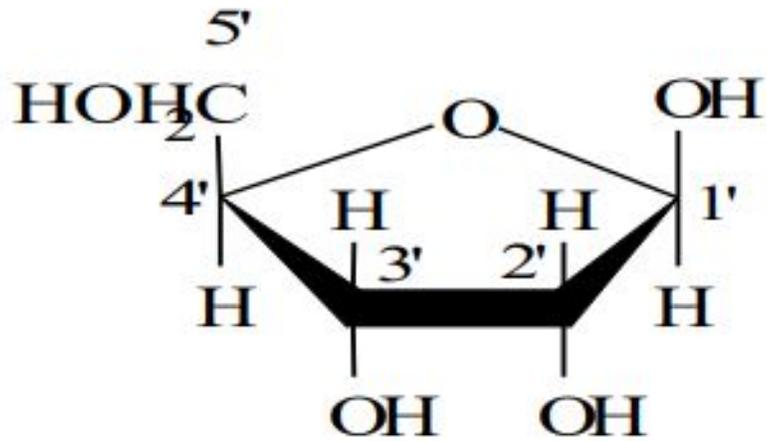


Пуриновые основания

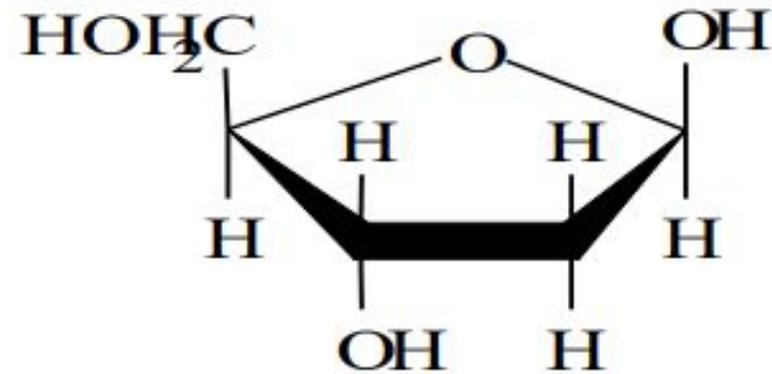


Углеводы

Углеводным компонентом нуклеиновых кислот являются пентозы: D-рибоза или 2-дезоксид-рибоза. Обе пентозы всегда находятся в фуранозной форме и имеют β -конфигурацию аномерного атома C-1' (в формулах нуклеотидов и нуклеозидов атомы углерода моносахаридов нумеруются цифрой со штрихом):



β -D-рибофураноза



2-дезоксид- β -D-рибофураноза

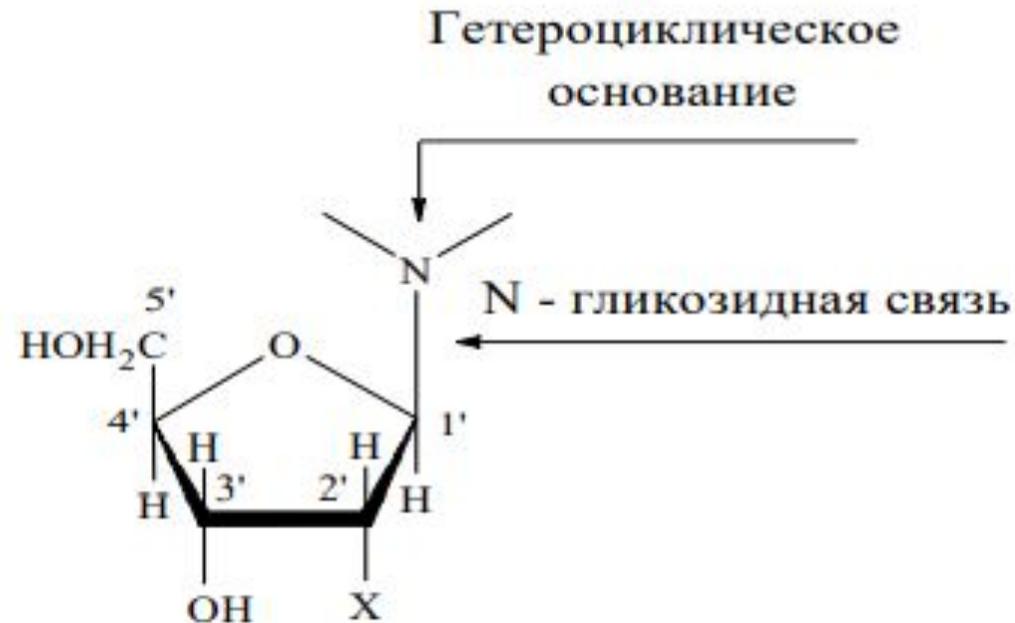
Фосфорная кислота

Остатки фосфорной кислоты (H_3PO_4) входят в состав нуклеотидов и этерифицируют D-рибозу и 2-дезокси-D-рибозу в положениях 3' и 5'. В этой связи нуклеотиды и полинуклеотиды можно рассматривать, с одной стороны, как сложные эфиры нуклеозидов (фосфаты), а с другой - как кислоты.

Остатки моносахаридов и фосфорной кислоты выполняют структурную функцию и являются носителями гетероциклических оснований.

Нуклеозиды

Нуклеозиды состоят из гетероциклических оснований, связанных с моносахаридом N-гликозидной связью. В образовании этой связи участвуют аномерный атом углерода моносахарида и атомы азота N-1 (у пиримидинового основания) и N-9 (у пуринового основания):



X = OH рибонуклеозид

X = H дезоксирибонуклеозид

В зависимости от углеводного остатка нуклеозиды делятся на рибонуклеозиды и дезоксирибонуклеозиды. Номенклатурные названия нуклеозидов строятся аналогично названиям гликозидов, например, \square -аденинрибофуранозид и т. д. Однако чаще используются названия с суффиксами -идин у пиримидиновых и -озин у пуриновых нуклеозидов и приставкой дезокси- у дезоксирибонуклеозидов:

цитозин + рибоза = цитидин; 5 цитозин + дезоксирибоза = дезоксицитидин;

аденин + рибоза = аденозин;

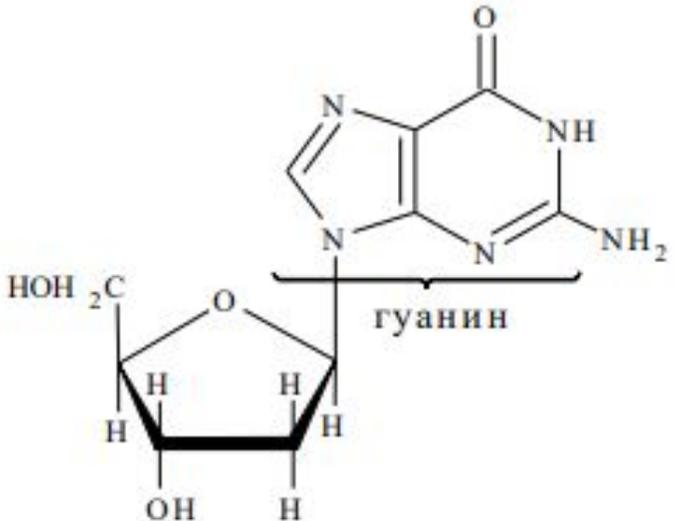
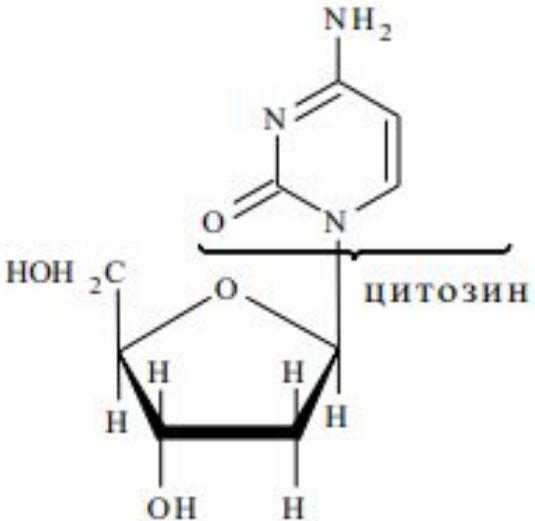
аденин + дезоксирибоза = дезоксиаденозин.

Исключением является название тимидин, используемое для дезокситимидина, входящего в состав ДНК.

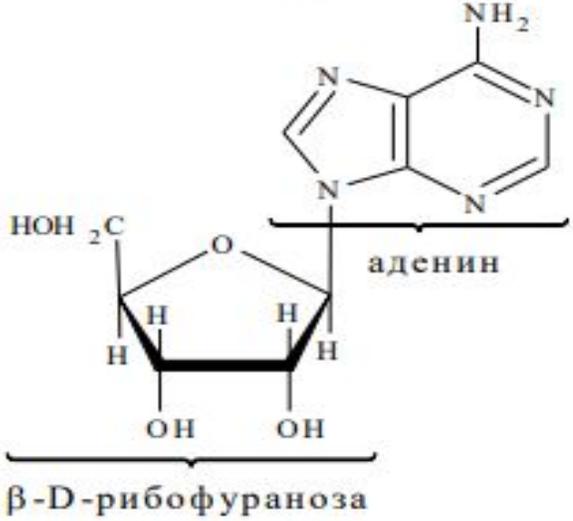
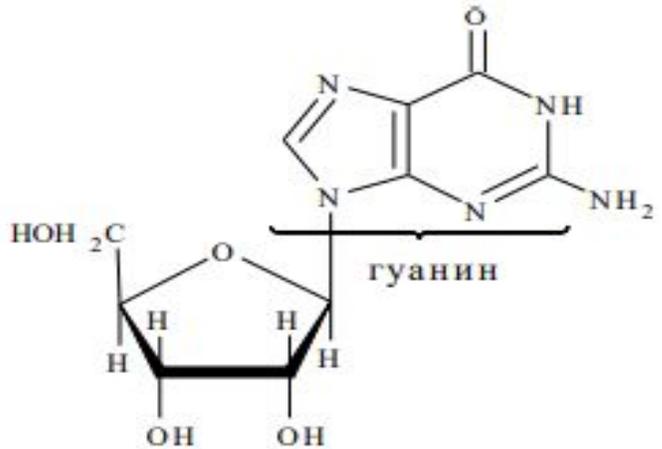
Кроме того, нуклеозиды обозначают символами, производимыми от входящих в них оснований. В случае дезоксирибонуклеозидов перед символом ставят строчную букву d (лат. d). Символами удобно пользоваться при обозначении первичной структуры ДНК или РНК. Если речь идет только о ДНК, букву d обычно пропускают.

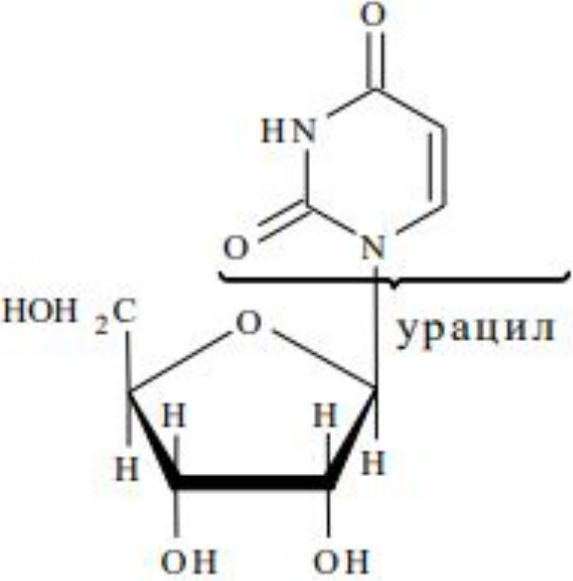
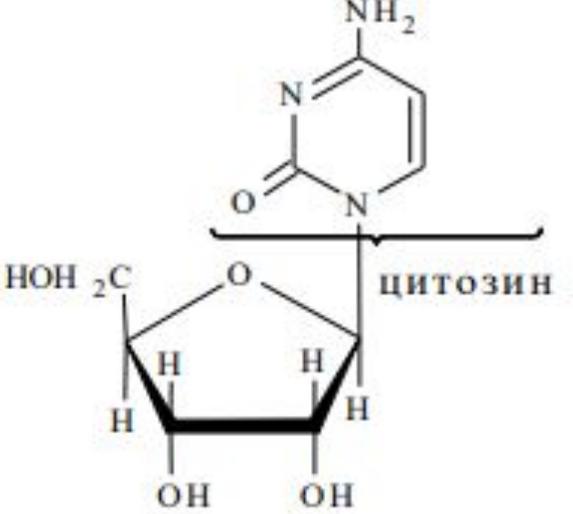
Нуклеозиды ДНК

Название	Символ	Формула
Дезоксиаденозин	дА или dA	<p>2'-дезокси-β-D-рибофураноза</p>
Тимидин	дТ или dT	<p>ТИМИН</p>

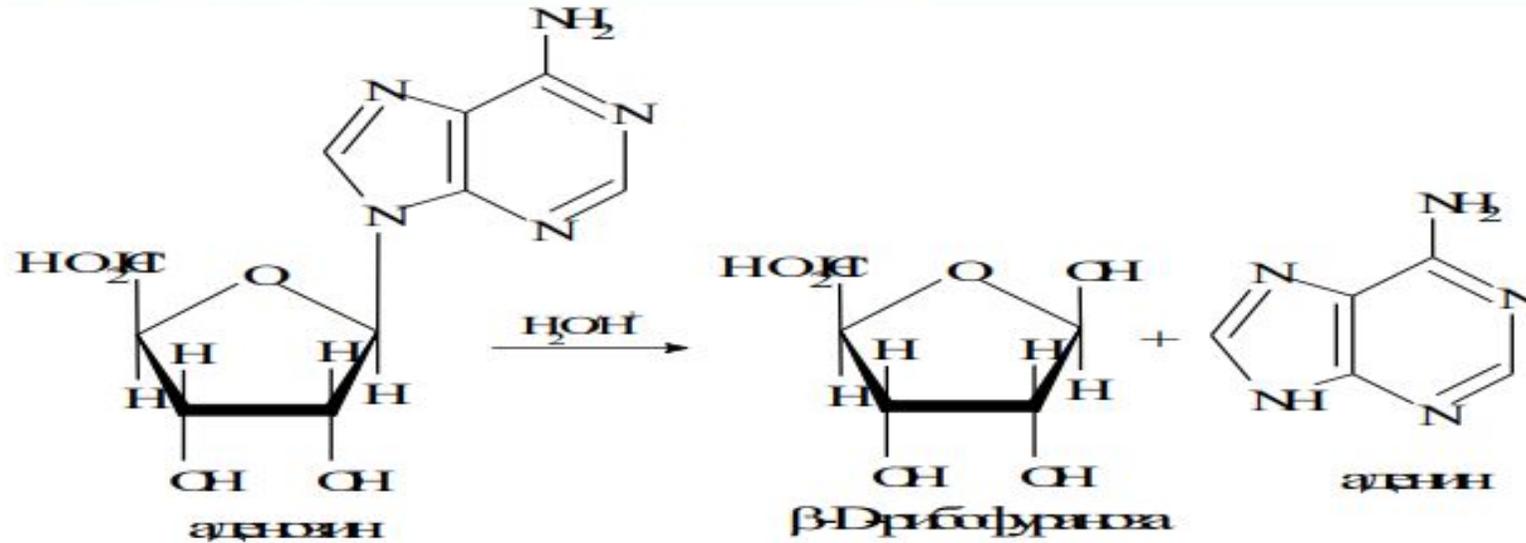
<p>Дезоксигуанозин</p>	<p>дГ или dG</p>	
<p>Дезоксицитидин</p>	<p>дЦ или dC</p>	

Нуклеозиды РНК.

Название	Символ	Формула
Аденозин	А	 <p>The diagram shows the chemical structure of Adenosine. It consists of a beta-D-ribofuranose sugar ring (labeled "β-D-рибофураноза") attached to an adenine base (labeled "аденин"). The sugar ring has a hydroxyl group (-OH) at the 2' position and a hydroxyl group (-OH) at the 3' position. The adenine base is a purine ring system with an amino group (-NH₂) at the 6-position. The glycosidic bond is shown between the C1' of the sugar and the N9 of the adenine base.</p>
Гуанозин	Г или G	 <p>The diagram shows the chemical structure of Guanosine. It consists of a beta-D-ribofuranose sugar ring (labeled "β-D-рибофураноза") attached to a guanine base (labeled "гуанин"). The sugar ring has a hydroxyl group (-OH) at the 2' position and a hydroxyl group (-OH) at the 3' position. The guanine base is a purine ring system with a carbonyl group (=O) at the 6-position and an amino group (-NH₂) at the 2-position. The glycosidic bond is shown between the C1' of the sugar and the N9 of the guanine base.</p>

<p>Уридин</p>	<p>У или U</p>	
<p>Цитидин</p>	<p>Ц или C</p>	

Нуклеозиды значительно лучше растворимы в воде, чем исходные азотистые основания. Подобно всем гликозидам, нуклеозиды устойчивы к действию щелочей, но при нагревании легко подвергаются кислотному гидролизу с разрывом гликозидной связи и образованием основания и



Пиримидиновые нуклеозиды значительно более устойчивы к гидролизу, чем пуриновые. В условиях *in vivo* гидролиз обоих типов нуклеозидов осуществляется при помощи специфических ферментов, называемых нуклеозидазами.

Нуклеотиды

Нуклеотиды – это производные нуклеозидов, которые образуются в результате этерификации пентозного фрагмента фосфорной кислотой. В зависимости от строения пентозы различают рибонуклеотиды (мономерные звенья РНК) и дезоксирибинуклеотиды (мономерные звенья ДНК).

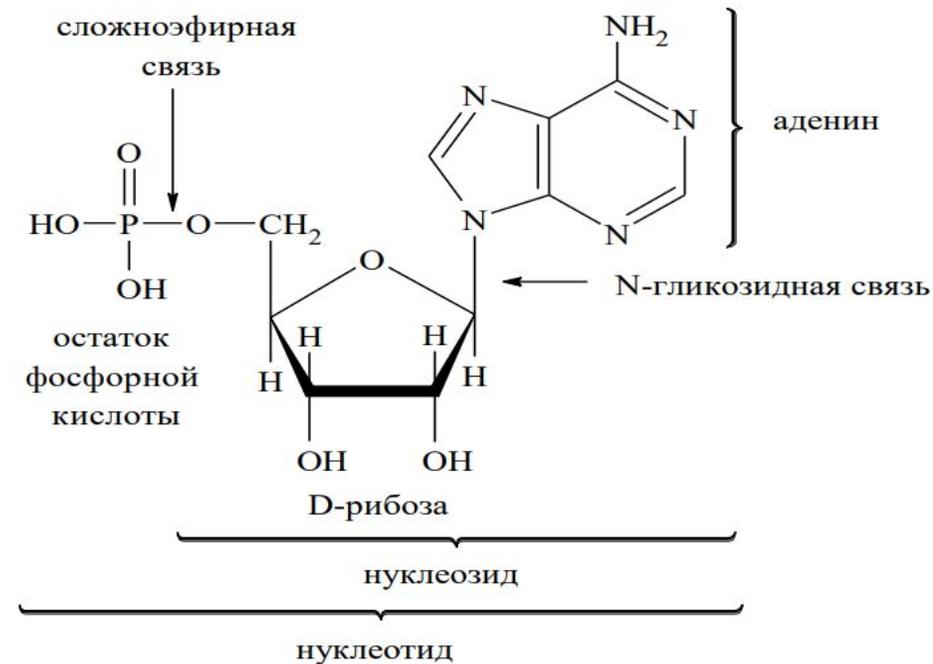
В 2-дезоксирибозе имеются только два положения, по которым может образовываться сложноэфирная связь – а именно 3'- и 5'-положения. В случае рибонуклеотидов фосфатная группа может находиться в положениях 2', 3' и 5'. В биологических системах встречаются нуклеотиды всех типов, однако наиболее распространены нуклеозид-5'-фосфаты. За счет фосфатного остатка нуклеотиды проявляют свойства кислот и в физиологических условиях ($\text{pH} \approx 7$) находятся в практически полностью ионизированном состоянии.

Мононуклеотиды

Мононуклеотиды - это повторяющиеся мономерные единицы олигонуклеотидов и полинуклеотидов.

Нуклеозидмонофосфаты.

Нуклеозидмонофосфаты содержат только один остаток фосфорной кислоты. Например:



Аденозин-5'-фосфат (АМФ) или 5'-адениловая кислота

Для монопнуклеотидов также используют два вида названий (табл. 3.), отражающих их принадлежность как к сложным эфирам, так и к кислотам. В первом случае название включает наименование нуклеозида с указанием положения в нем фосфатного остатка: аденозин-5'-фосфат*, уридин-5'-фосфат и т. д. Широко используются и тривиальные названия, имеющие окончание «-овая кислота», например, 5'-Уридиловая кислота.

Для удобства введены сокращения: трехбуквенные – АМФ (лат. AMP), УМФ (лат. UMP) и т.д. и однобуквенные – рА, рU и т.д. В биохимической литературе встречаются как русские, так и латинские обозначения, однако более широко используются латинские. Сокращения AMP, GMP и т.д. всегда относятся к 5'-нуклеотидам. У других, например, 3'-производных в сокращенном названии указывается положение фосфатной группы: 3'-AMP, 3'-GMP и т. д.

* вместо «монофосфат» часто пишут просто «фосфат».

В однобуквенных кодах 5'-фосфаты записываются с добавлением латинской буквы «р» перед символом нуклеозида (рА), 3'-фосфаты – после символа нуклеозида (Ap).

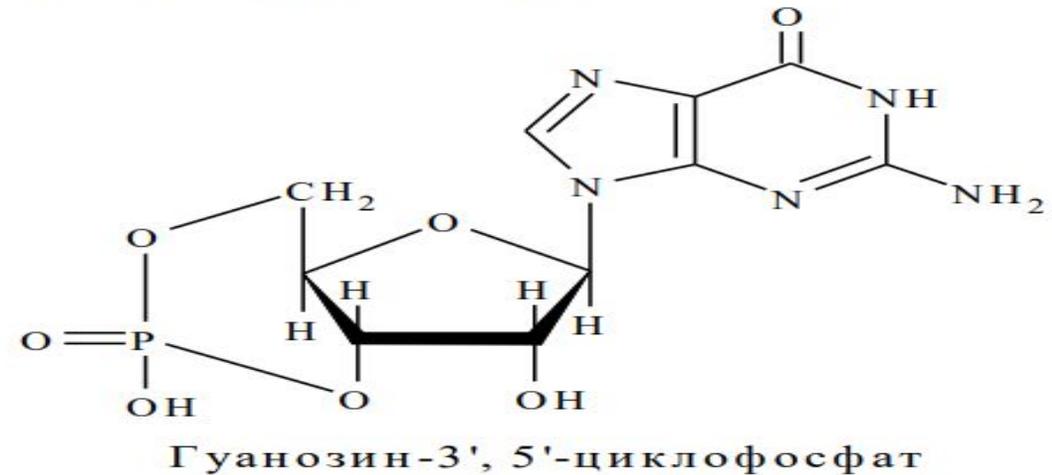
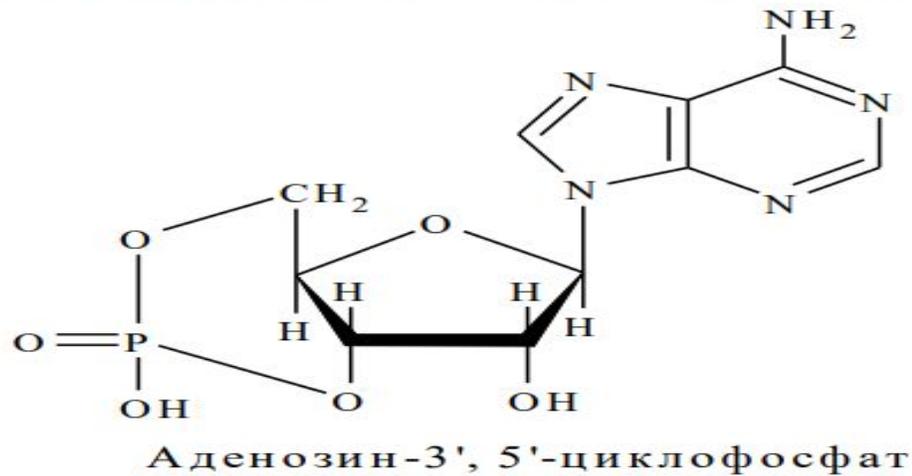
Важнейшие нуклеотиды, входящие в состав нуклеиновых кислот.

Названия нуклеотидов		Сокращенные названия	
как монофосфата	как кислоты		
Входящие в состав РНК			
Аденозин-5'-фосфат*	5'-Адениловая кислота	AMP	pA
Гуанозин-5'-фосфат	5'-Гуаниловая кислота	GMP	pG
Цитидин-5'-фосфат	5'-Цитидиловая кислота	CMP	pC
Уридин-5'-фосфат	5'-Уридиловая кислота	UMP	pU
Входящие в состав ДНК			
Дезоксиаденозин-5'-фосфат	5'-Дезоксиадениловая кислота	dAMP	pdA
Дезоксигуанозин-5'-фосфат	5'-Дезоксигуаниловая кислота	dGMP	pdG
Дезоксицитидин-5'-фосфат	5'-Дезоксицитидиловая кислота	dCMP	pdC
Тимидин-5'-фосфат	Тимидиловая кислота	dTMP	pdT

Сложноэфирные связи с фосфатными остатками в монопнуклеотидах относительно устойчивы к кислотному гидролизу. Однако фермент 5'-нуклеотидаза способен отщеплять фосфатную группу в положении 5', не затрагивая при этом N-гликозидную связь.

Нуклеозидмоноциклофосфаты.

Существуют нуклеотиды, в которых фосфорная кислота одновременно этерифицирует две гидроксильные группы пентозного остатка с образованием устойчивого шестичленного цикла. В этой связи в их названиях используют приставку цикло-, например, циклоаденозинмонофосфат (сАМР) или 10 циклогуанозинмонофосфат (сGMP). Эти два нуклеозидциклофосфата присутствуют практически во всех клетках живых



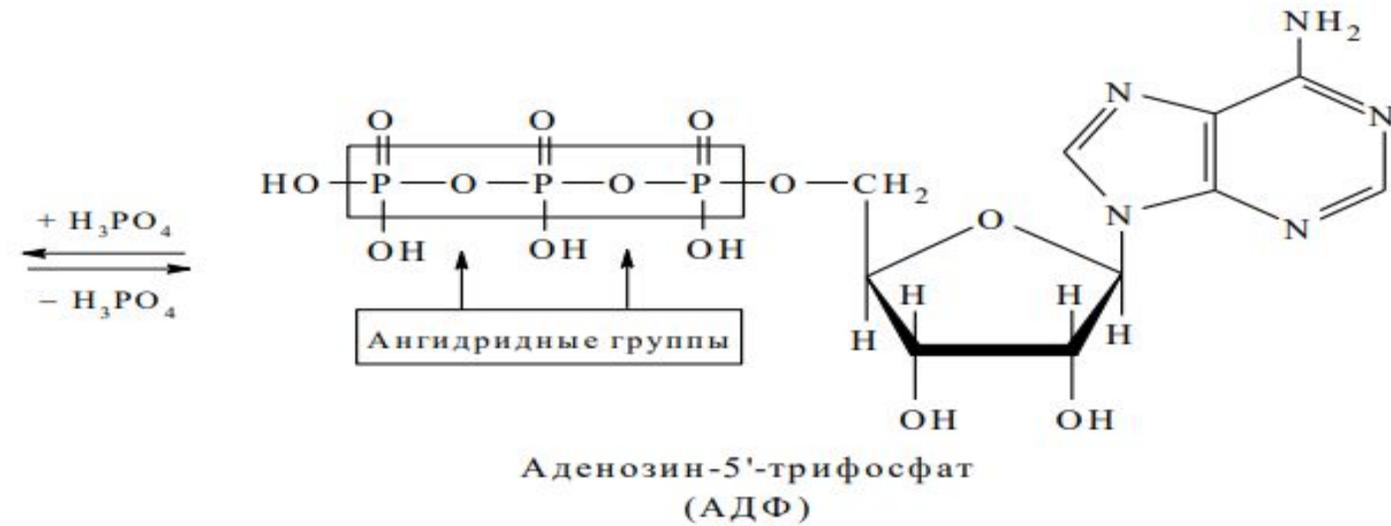
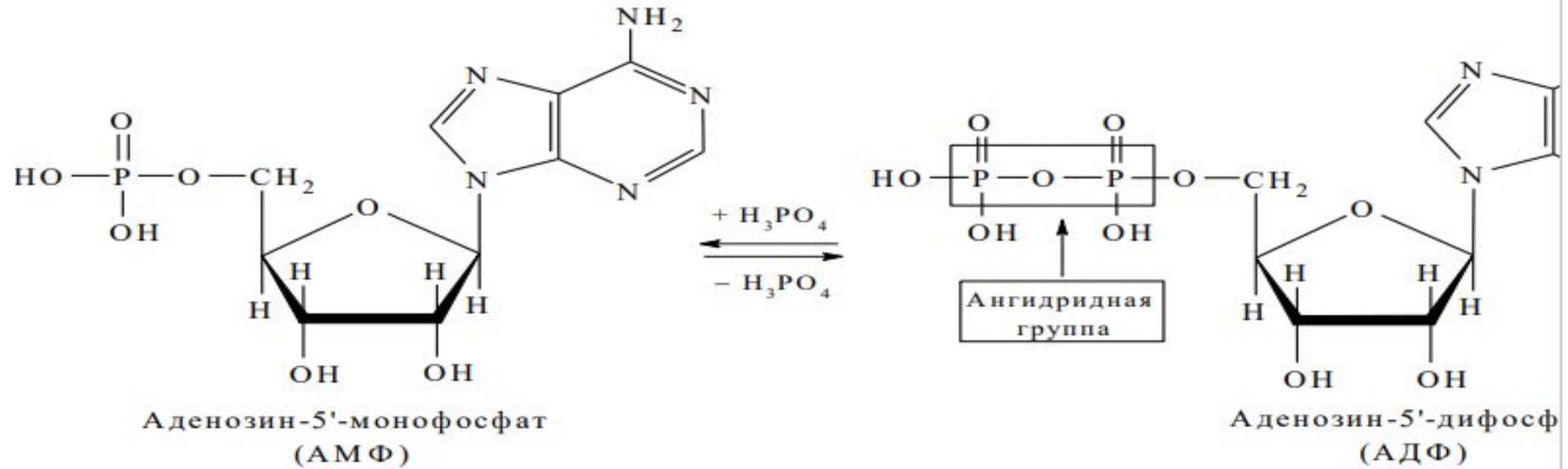
Биологическая роль циклических нуклеотидов была открыта сравнительно недавно. Так, аденозин-3', 5'-циклофосфат выполняет роль внутриклеточного

Нуклеозид-5' -дифосфаты (НДФ) и нуклеозид-5' -трифосфаты (НТФ).

Во всех тканях организма в свободном состоянии содержатся не только моно-, но и ди-, а также трифосфаты нуклеозидов. Наиболее известными являются аденозин-5'-дифосфат (АДФ) аденозин-5'-трифосфат (АТФ).

Нуклеотиды, фосфорилированные в разной степени, способны к взаимопревращениям путем наращивания или отщепления фосфатных групп. Дифосфатная группа содержит одну, а трифосфатная – две ангидридные связи, называемые **макроэргическими**, поскольку они обладают большим запасом энергии. При расщеплении **макроэргической** связи P – O выделяется энергия, приблизительно равная 32 кДж/моль. Этим объясняется важнейшая роль АТФ как «поставщика» энергии во всех живых клетках.

Ангидридные связи могут гидролизоваться либо специфическими ферментами, либо при кипячении в присутствии HCl. Ни сложноэфирная связь, ни N-гликозидная при этом не расщепляются.



Взаимные превращения АМФ, АДФ и АТФ.

Олиго- и полинуклеотиды

Олигонуклеотидами называют соединения, в которых несколько нуклеозидов (до 20) соединены между собой фосфодиэфирными связями. Нуклеозид со свободной 5'-ОН-группой называется 5'-концевым, а со свободной 3'-ОН-группой - 3'-концевым.

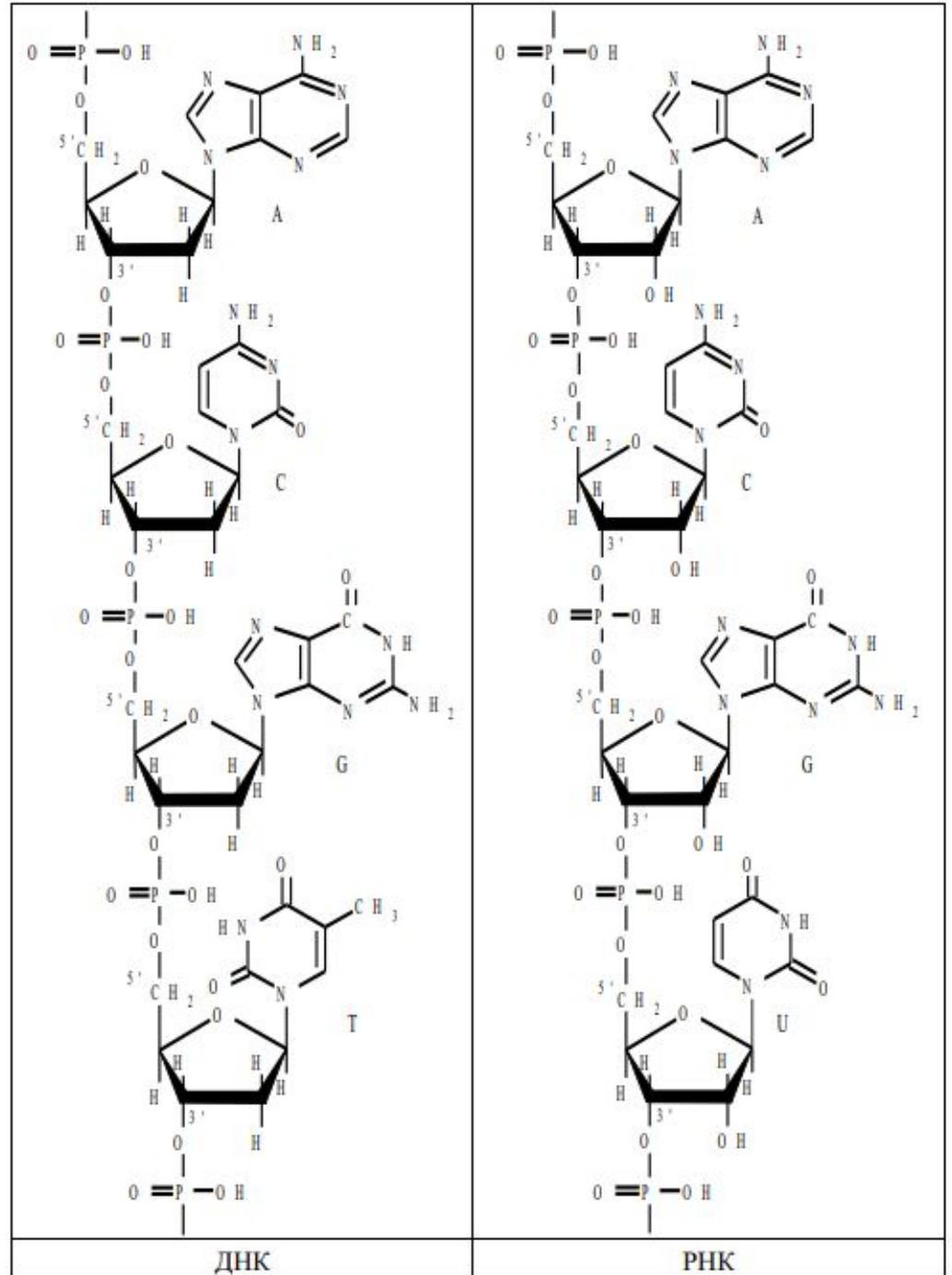
Полинуклеотиды представляют собой линейные гетерополимеры, также состоящие из последовательности моонуклеозидных единиц, соединенных фосфатным мостиком. Полинуклеотиды, состоящие из ковалентно связанных между собой остатков дезоксирибонуклеозидов, называются **дезоксирибонуклеиновыми кислотами (ДНК)**, а полинуклеотиды, состоящие из остатков рибонуклеозидов - **рибонуклеиновыми кислотами (РНК)**. В обоих случаях моонуклеозиды связаны между собой при помощи фосфодиэфирных мостиков, соединяющих 3'-положение одного моонуклеотида с 5'-положением его соседа. Нуклеиновые кислоты также различаются и по составу входящих в них гетероциклических оснований: урацил входит только в состав РНК, а тимин - только в состав ДНК. Аденин, цитозин и гуанин являются постоянными компонентами полинуклеотидов. Молекулярная масса ДНК достигает десятков миллионов. Это самые длинные из известных макромолекул. Значительно меньше молекулярная масса РНК (от нескольких сотен до десятков тысяч). ДНК содержатся в основном в ядрах клеток, РНК □ в рибосомах и протоплазме клеток.

Первичная структура нуклеиновых

кислот

Первичная структура нуклеиновых кислот — это нуклеотидный состав и определенная последовательность нуклеотидных звеньев в полимерной цепи.. Для записи первичной структуры ДНК и РНК используют однобуквенные обозначения нуклеозидов. Приведенные фрагменты ДНК и РНК записывают соответственно: d(A-C-G-T) и (A-C-G-U). Часто букву d опускают, если речь идет о ДНК

Первичная структура цепи ДНК и РНК.



Первичная структура цепи ДНК и РНК

Нуклеотидный состав ДНК различного происхождения находится в соответствии с правилами Э. Чаргаффа:

1) Все ДНК независимо от их происхождения содержат одинаковое число пуриновых и пиримидиновых оснований. Следовательно, в любой ДНК на каждый пуриновый нуклеотид приходится один пиримидиновый.

2) Любая ДНК всегда содержит в равных количествах попарно аденин и тимин, гуанин и цитозин, что обычно обозначают как $A = T$ и $G = C$.

3) Количество оснований, содержащих аминогруппы в положении 4 пиримидинового ядра и 6 пуринового (цитозин и аденин), равно количеству оснований, содержащих оксо-группу в тех же положениях (гуанин и тимин), т. е. $A + C = G + T$.

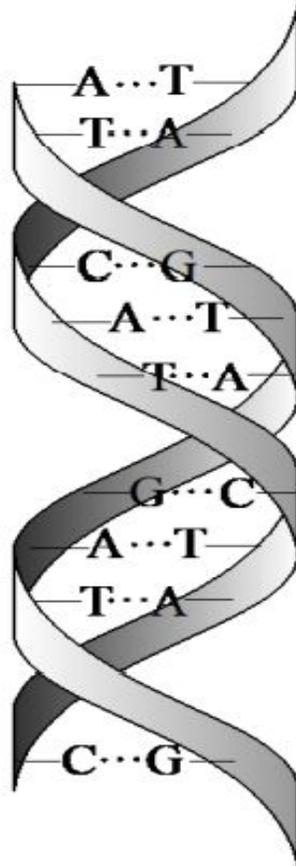
Наряду с этим было установлено, что для каждого типа ДНК суммарное содержание гуанина и цитозина не равно суммарному содержанию аденина и тимина, т. е. что $(G + C)/(A + T)$, как правило, отличается от единицы (может быть как больше, так и меньше ее). По этому признаку различают два основных типа ДНК: А-Т-тип с преимущественным содержанием аденина и тимина и G-С-тип с преимущественным содержанием гуанина и цитозина.

Для РНК правила Чаргаффа либо не выполняются, либо выполняются с большим приближением.

Вторичная структура нуклеиновых

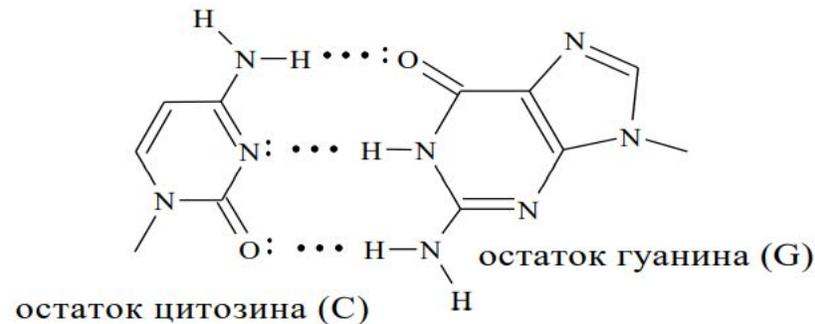
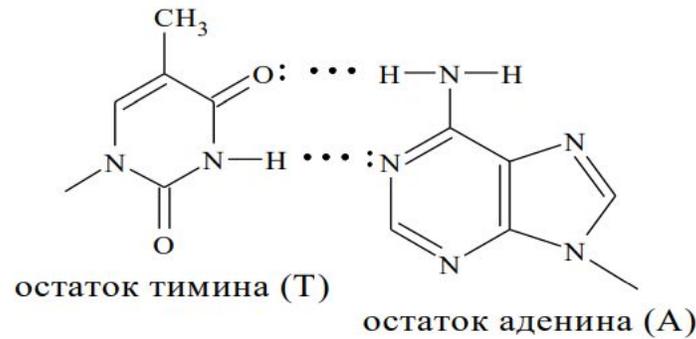
кислот

Под вторичной структурой нуклеиновых кислот понимают пространственно упорядоченные формы полинуклеотидных цепей. Вторичная структура ДНК представляет собой две параллельные неразветвленные полинуклеотидные цепи, закрученные вокруг общей оси в двойную спираль.



Вторичная структура ДНК

Такая пространственная структура удерживается множеством водородных связей, образуемых азотистыми основаниями, направленными внутрь спирали. Эти основания составляют комплементарные пары (от лат. complementum - дополнение). Образование водородных связей между комплементарными парами оснований обусловлено их пространственным соответствием. Так, пиримидиновое основание комплементарно пуриновому:



Водородные связи между другими парами оснований не возникают по пространственным причинам. Таким образом, в ДНК:

ТИМИН (Т) комплементарен АДЕНИНУ (А)

ЦИТОЗИН (С) комплементарен ГУАНИНУ (G)

Комплементарность оснований определяет комплементарность цепей в молекулах ДНК. Водородные связи возникают между пуриновым основанием одной цепи и пиримидиновым основанием другой цепи. Иными словами, пуриновым основаниям аденину и гуанину в одной цепи будут соответствовать пиримидиновые основания тимин и цитозин в другой цепи.

Таким образом, полинуклеотидные цепи, образующие двойную спираль, не идентичны, но комплементарны между собой:

В сдвоенной молекуле ДНК суммарно число групп А равно числу групп Т, а число групп G – числу С.

Комплементарность полинуклеотидных цепей служит химической основой главной функции ДНК – хранения и передачи наследственных признаков.

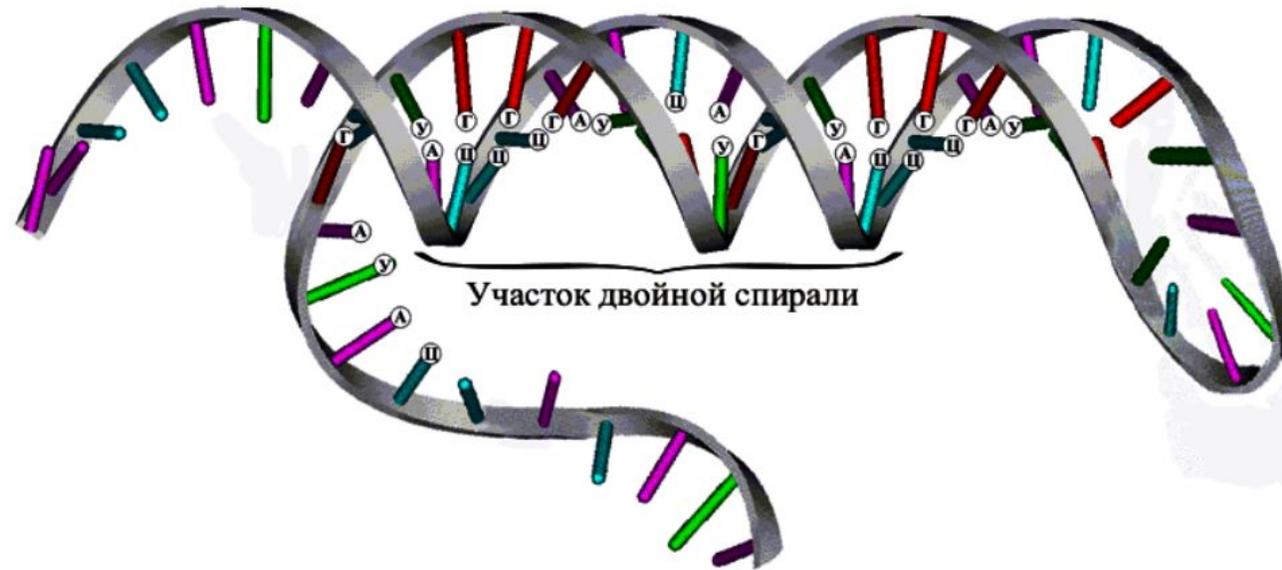
Способность ДНК не только хранить, но и использовать генетическую информацию определяется следующими ее свойствами:

1) Молекулы ДНК способны к репликации (удвоению), т.е. могут обеспечить возможность синтеза других молекул ДНК, идентичных исходным, поскольку последовательность оснований в одной из цепей двойной спирали контролирует их расположение в другой цепи;

2) Молекулы ДНК могут совершенно точным и определенным образом направлять синтез белков, специфичных для организмов данного вида.

Вторичная структура РНК

В отличие от ДНК, молекулы РНК состоят из одной полинуклеотидной цепи и не имеют строго определенной пространственной формы (рис. 3.), т.к. вторичная структура РНК зависит от их биологических функций. Полимерная цепь РНК приблизительно в десять раз короче, чем у ДНК. Комплементарными парами в РНК являются цитозин-гуанин и урацил-аденин.



Вторичная структура РНК

Основная роль РНК - непосредственное участие в биосинтезе белка.

Известны три вида клеточных РНК, которые отличаются по местоположению в клетке, составу, размерам и свойствам, определяющим их специфическую роль

в образовании белковых макромолекул:

1) Информационные (матричные) РНК передают закодированную в ДНК информацию о структуре белка от ядра клетки к рибосомам, где и осуществляется синтез белка;

2) Транспортные РНК собирают аминокислоты в цитоплазме клетки и переносят их в рибосому; молекулы РНК этого типа "узнают" по 17 соответствующим участкам цепи информационной РНК, какие аминокислоты

должны участвовать в синтезе белка;

3) Рибосомные РНК обеспечивают синтез белка определенного строения, считывая информацию с информационной (матричной) РНК.

Химические свойства нуклеиновых

кислот

ДНК и РНК имеют много общих химических и физических свойств. Так, нуклеиновые кислоты хорошо растворимы в воде и плохо растворяются в водных растворах кислот. Существенные различия ДНК и РНК связаны, в основном, с их отношением к гидролизу.

Гидролиз в кислой среде.

Мягкий кислотный гидролиз ДНК оказывает весьма избирательное действие: он приводит к расщеплению N-гликозидных связей между пуриновыми основаниями и дезоксирибозой, связи пиримидин-дезоксирибоза при этом не затрагиваются. В результате образуется ДНК, лишенная пуриновых оснований. Гидролиз РНК, проводимый в аналогичных условиях, приводит к образованию пуриновых оснований и пиримидиновых нуклеозид-2'(3')-фосфатов.

Кислотный гидролиз в жестких условиях, приводит к разрыву всех N-гликозидных связей как ДНК, так и РНК и образованию смеси пуриновых и пиримидиновых оснований.

Гидролиз в щелочной среде.

В щелочной РНК легко гидролизуются до нуклеотидов, которые в свою очередь, расщепляются с образованием нуклеозидов и остатков фосфорной кислоты. ДНК, в отличие от РНК, устойчивы к щелочному гидролизу.

Ферментативный гидролиз

Гидролиз ДНК и РНК также протекает и при участии специфических ферментов - **нуклеаз**. Эти ферменты избирательно действуют на 3'- и 5'-сложноэфирные связи. Так, **фосфодиэстераза**, выделенная из яда змей, расщепляет все 3'-связи как в ДНК, так и в РНК с образованием нуклеозид-5'-фосфатов. Фосфодиэстераза, выделенная из селезенки быка, наоборот, гидролизует только 5'-связи и высвобождает только нуклеозид-3'-фосфаты. Известны дезокси-рибонуклеазы, расщепляющие связи только между определенными парами мононуклеотидов - их используют для направленного гидролиза РНК. Гидролиз ДНК и РНК проводят, в основном, для установления их нуклеотидного состава. Далее выделенные смеси анализируют с использованием хроматографических и спектральных методов анализа, а также электрофореза.

СПАСИБО ЗА ВНИМАНИЕ!!!