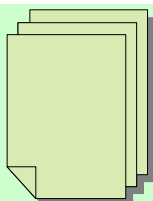


# 10. НУКЛЕИНОВЫЕ КИСЛОТЫ. СТРУКТУРА

Нуклеотиды и азотистые основания. Пространственная структура нуклеиновых кислот. Функции нуклеиновых кислот. Мир РНК.

В этой книге я излагаю свои впечатления о том, как была открыта структура ДНК... Я хотел, чтобы эта книга показала, что наука вопреки мнению непосвященных редко развивается по прямому логическому пути. На самом деле каждый ее шаг вперед (а иногда и назад) - очень часто событие глубоко личное, в котором главную роль играют человеческие характеры и национальные традиции.

Из предисловия Д. Уотсона к книге «Двойная спираль»



Опыт/  
исследование

Еще в первой половине XX века Эрвин Чаргафф исследовал соотношение между различными типами нуклеотидов (мономеров нуклеиновых кислот) в ДНК. Соотношения, выявленные им для аденина (А), тимина (Т), гуанина (Г) и цитозина (Ц) из разных организмов, оказались следующими:

| Организм                    | Нуклеотидный состав, мол. % |        |       |         |
|-----------------------------|-----------------------------|--------|-------|---------|
|                             | Аденин                      | Гуанин | Тимин | Цитозин |
| Человек                     | 30,9                        | 19,9   | 29,4  | 19,8    |
| Овца                        | 29,3                        | 21,4   | 28,3  | 21,0    |
| Курица                      | 28,8                        | 20,5   | 29,2  | 21,5    |
| Черепаша                    | 29,7                        | 22,0   | 27,9  | 21,3    |
| Лосось                      | 29,7                        | 20,8   | 29,1  | 20,4    |
| Морской<br>еж               | 32,8                        | 17,7   | 32,1  | 17,3    |
| Саранча                     | 29,3                        | 20,5   | 29,3  | 20,7    |
| Пшеница                     | 27,3                        | 22,7   | 27,1  | 22,8    |
| Дрожжи                      | 31,3                        | 18,7   | 32,9  | 17,1    |
| <i>Escherichia<br/>coli</i> | 24,7                        | 26,0   | 23,6  | 25,7    |

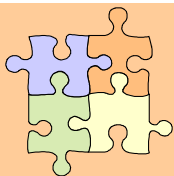


🔍 Какие закономерности можно обнаружить в этих данных? Попробуйте сформулировать их в виде кратких правил.

## Нуклеотиды и азотистые основания

Несмотря на свое разнообразие, соединения на основе углерода, водорода и кислорода (к которым относятся липиды и углеводы) оказались не в состоянии выполнять сложные функции, такие как катализ или сохранение наследственной информации, видимо свою роль в этом сыграло относительно малое разнообразие функциональных групп. Во всяком случае, две наиболее «передовые» группы биологических полимеров – нуклеиновые кислоты и белки – оказались построены на основе азотсодержащих органических веществ.

В 1868 году швейцарский химик Иоганн Фридерих Мишер выделил из гноя больничных бинтов вещество, которое разделил на две фракции – кислую (названную нуклеином) и основную (щелочную). Кислая азотсодержащая фракция получила название **нуклеиновых кислот**.



## Выделение нуклеина

Как называется основная (щелочная) фракция, выделенная Ф.И. Мишером, мы обсудим позже. А вот детали эксперимента нас могут заинтересовать.

### Задание

**Почему именно гной, как биологический материал, был удобным источником для выделения нуклеиновых кислот?**

Нуклеиновые кислоты – полимеры, состоящие из мономеров – нуклеотидов, которые в свою очередь имеют сложное химическое строение. Каждый нуклеотид состоит из азотистого основания, пятиуглеродного (для простоты иногда говорят - пятиатомного) сахара, пентозы, и остатка фосфорной кислоты.

Азотистые основания – сложные гетероциклические соединения, содержащие в циклах кроме углерода атомы азота. По химической структуре они делятся на две группы: производные пурина (аденин, гуанин) и производные пириимидина (тимин, цитозин, урацил).

Названия азотистых оснований отражают историю их открытия: аденин и тимин получили свои имена по тимусу, вилочковой железе (*лат.* железа - *aden*), название «цитозин» просто отсылает к клетке (*греч.* *цитос* - клетка). Гуанин был выделен из перуанского гуано – отложенный помета южноамериканских птиц, а урацил – и вовсе из мочи (корень *уро-* относится к моче).

Азотистое основание присоединяется к первому углероду пентозы (в циклической форме), а остаток фосфорной кислоты к пятому углеродному атому пентозы.

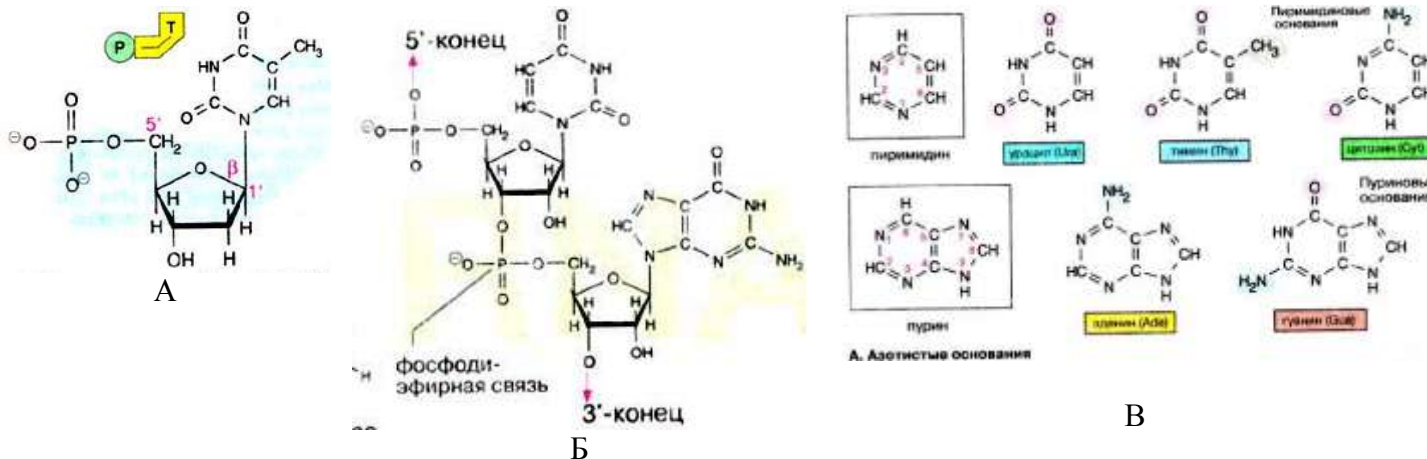


Рис.1. Азотистые основания, нуклеотиды и их соединение в цепь  
А. Нуклеотид. Б. Динуклеотид В. Азотистые основания

Нуклеотиды объединяются в полимеры – полинуклеотиды – ковалентной связью через остаток фосфорной кислоты (фосфодиэфирной связью), соединяющей между собой третий и пятый атомы углерода пентозы. Соответственно, в цепи нуклеиновой кислоты всегда будет два конца: 5' (со стороны, где нет связи со следующим нуклеотидом у 5-го углеродного атома сахара) и 3' (со

свободным 3-м атомом углерода в сахаре). 5' конец принято считать началом полинуклеотидной цепи, 3' концом (5'→3').

В живых клетках встречается два основных типа нуклеиновых кислот: РНК – рибонуклеиновая кислота и ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота. Они отличаются типом пятиатомного сахара (рибоза и дезоксирибоза) и азотистыми основаниями. В состав РНК входят азотистые основания: аденин, урацил, тимин, цитозин. В состав ДНК - аденин, гуанин, тимин и цитозин. Таким образом (в отличие от полисахаридов, гликогена или целлюлозы, которые являются **гомополимерами**), полинуклеотиды – это практически всегда **гетерополимеры**, в которых чередуются разные нуклеотиды. Также, в отличие от полисахаридов, нуклеиновые кислоты – это всегда линейные полимеры, что связано с их функцией сохранения и реализации наследственной информации. Четыре типа нуклеотидов – это четыре «буквы» генетического алфавита, различными сочетаниями которых может быть записан генетический «текст», содержащий всю необходимую информацию о функционировании живой клетки. Таким образом, задачи «развития» и «размножения» биологических систем в той форме в какой они существуют на Земле можно (очень упрощенно) свести к последовательному «чтению», «копированию» и реализации («овеществлению» – воплощению в разные структуры) этого генетического текста.

Долгое время считалась, что РНК – компонент растений, включая грибы, а ДНК рассматривалась как типичный компонент животных клеток, как "животная нуклеиновая кислота", чаще всего называвшаяся тогда "тимонуклеиновой кислотой" (от *лат.* thymus - вилочковая железа, из которой ее выделяли). Лишь позднее выяснилось, что обе эти нуклеиновые кислоты присутствуют в клетках как растений так и животных, как прокариот, так и эукариот.

### **Пространственная структура нуклеиновых кислот**

Важнейшей способностью нуклеиновых кислот, обеспечивающей выполнение ими сложных функций, является их способность образовывать упорядоченные трехмерные структуры строго определенной конформации. А эта способность, в свою очередь, связана со способностью азотистых оснований к комплементарным взаимодействиям. Расшифровка пространственной структуры нуклеиновых кислот (в первую очередь – ДНК) стала важнейшей вехой в истории биологии XX века.

Еще в первой половине XX века Эрвин Чаргафф, анализируя нуклеотидный состав ДНК различных организмов, обнаружил следующие закономерности, получившие названия «Правил Чаргаффа»:

1. Количество аденина равно количеству тимина, а гуанина — цитозину:  $A=T$ ,  $G=C$ .
2. Количество пуринов равно количеству пиримидинов:  $A+G=T+C$ .
3. Отношение  $(A+T)/(G+C)$  различается у разных организмов (является видоспецифическим).

Чтобы согласовать данные Э. Чаргаффа с результатами рентгеноструктурного анализа ДНК, Джеймс Дью Уотсон и Френсис Крик предложили модель структуры молекулы ДНК в виде «двойной спирали» с шагом в 3,4 нм (10 пар нуклеотидов на виток), в которой две цепи нуклеотидов обращены друг к другу азотистыми основаниями, а наружу – остатками сахаров и фосфорной кислоты (т.н. пентозофосфатным остовом). При этом азотистые основания цепей комплементарны друг другу – напротив аденина всегда находится тимин, а напротив гуанина – цитозин<sup>1</sup>. Эта модель, собранная

---

<sup>1</sup> История этого открытия была описана Д. Уотсоном в книге «Двойная спираль» <http://www.chem.msu.ru/rus/books/watson/welcome.html>

сначала из деревянных шариков молекулярного конструктора, была потом подтверждена прямыми экспериментальными данными.

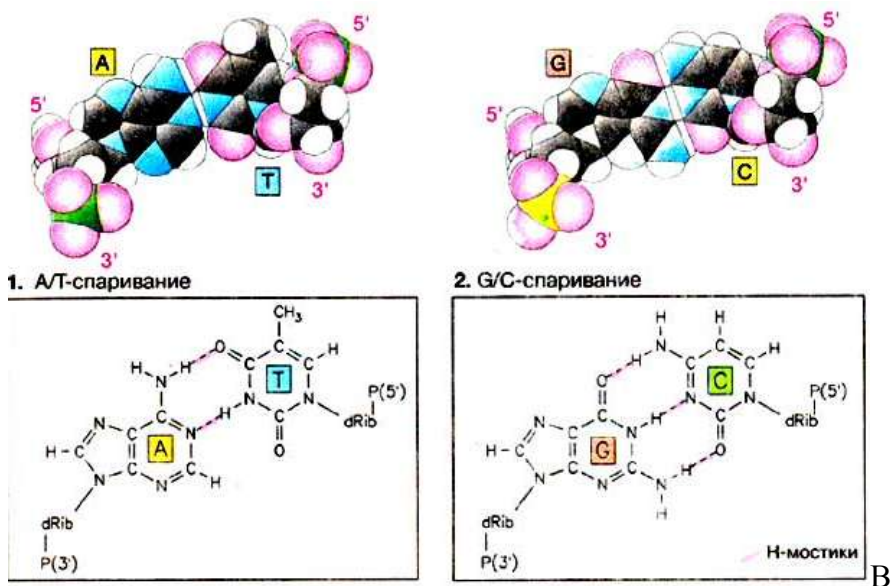


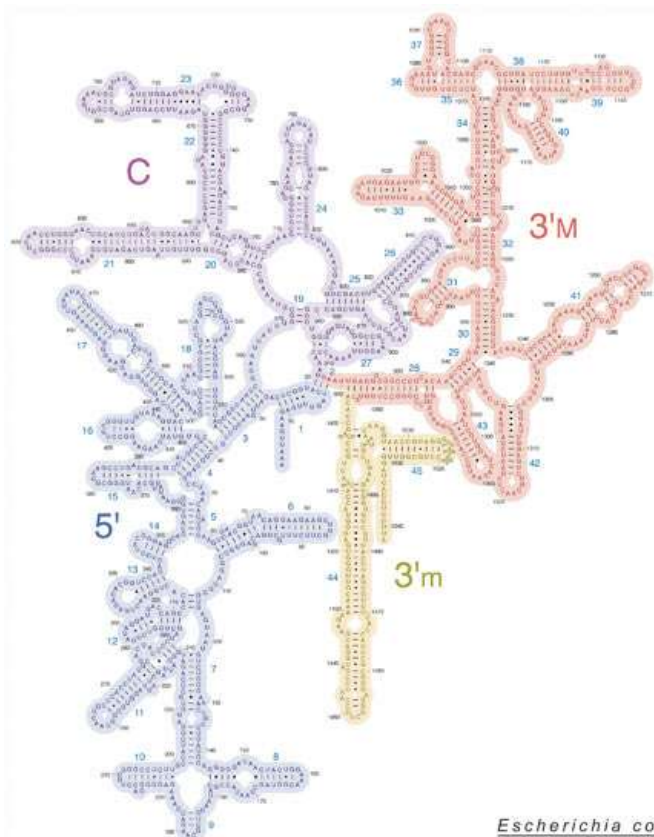
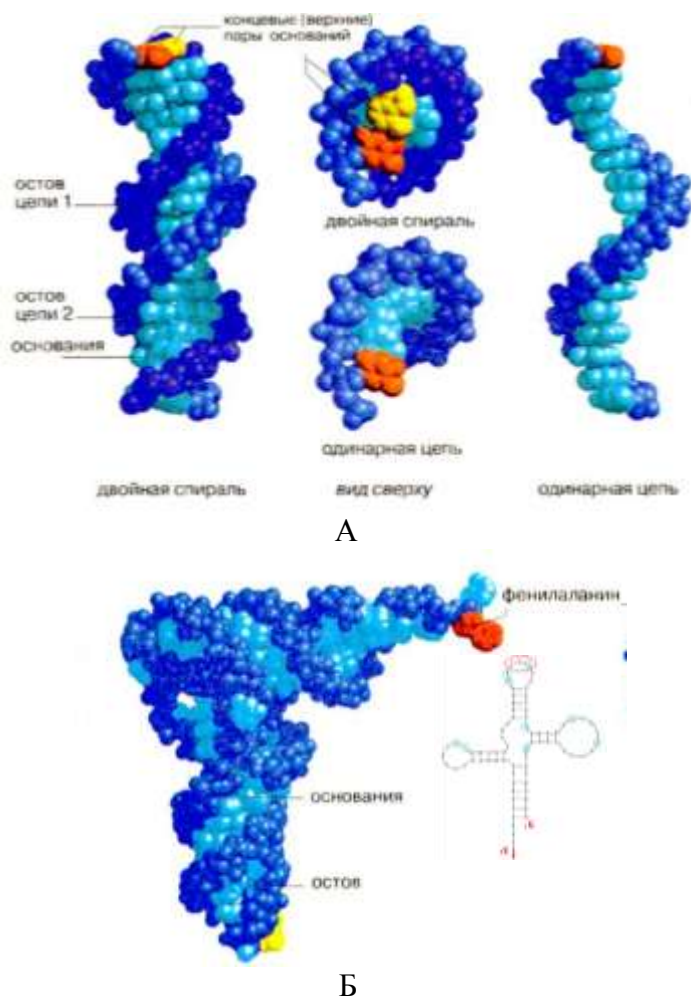
Рис.2. Комплементарные взаимодействия нуклеотидов

Оказалось, что пары А-Т, Г-Ц являются наиболее выгодными взаимодействиями для ДНК, а А-У, Г-Ц, для РНК. Говорят так же о «комплиментарности» остатков А к Т и Г к С. Природа этой комплиментарности состоит с одной стороны в том, что между комплиментарными основаниями образуются водородные связи (две в паре А-Т и три в паре Г-Ц), а с другой в том что комплиментарные пары оснований обладают сходными геометрическими характеристиками и могут быть уложены в регулярную структуру (похожую на стопку книг одного размера), стабилизируемую дополнительными взаимодействиями между гетероциклами (стегиинг-взаимодействиями).

Стоит отметить, что такое комплиментарное спаривание нуклеотидов возможно, только если взаимодействующие цепи располагаются антипараллельно (5' конец первой цепи нуклеотидов напротив 3' конца второй цепи). Этого можно добиться двумя способами. Могут взаимодействовать две комплементарные цепи нуклеиновых кислот или же одна цепь нуклеиновых кислот может содержать комплементарные участки внутри себя самой. Первый вариант использует ДНК, второй - РНК.

Структура ДНК – это всегда «двойная спираль», образованная двумя строго комплементарными цепями ДНК. Пространственные структуры молекул РНК гораздо сложнее и разнообразней. Как правило, это причудливые трехмерные конструкции, в состав которых входят спиральные и неспиральные элементы. Кроме основных четырех пар оснований, РНК часто содержит «неканонические», модифицированные нуклеотиды (псевдоурацил, инозин и другие). Комплементарные участки в РНК перемежаются с некоплементарными.

Разница в пространственных структурах нуклеиновых кислот самым непосредственным образом связана с разницей в выполняемых ими функциях.



[http://www.vechnayamolodost.ru/img/04-08/ecoli\\_16s\\_rna.jpg](http://www.vechnayamolodost.ru/img/04-08/ecoli_16s_rna.jpg)

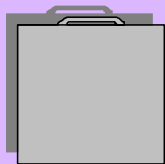
Рис.3. Название рисунка

А. Пространственная структура ДНК. Б. Пространственная структура транспортной РНК.

В. – Рибосомальная РНК

Рис. trna.gif в папке add\_10 положить на трехмерную структуру тРНК, удалив надписи; сама тРНК – можно [http://hitech.werd.ru/uploads/posts/thumbs/2008-02-01/1201851954\\_rna.gif](http://hitech.werd.ru/uploads/posts/thumbs/2008-02-01/1201851954_rna.gif), только на белом фоне

Определение первичной нуклеотидной последовательности биополимеров (в т.ч. нуклеиновых кислот — ДНК и РНК) с применением различных химических и биохимических методов называется **секвенированием** (от *англ.* sequence — последовательность). В результате получается линейное символьное описание (последовательность), которое сжато резюмирует атомную структуру молекулы.



Термин параграфа

**Палиндром** (от *греч.* palindromeo – бежать назад) – слово, фраза или стих, которые одинаково читаются слева направо и справа налево (“кабак”, “радар”, “Аргентина манит негра”, “хил, худ, а дух лих”, “не гни папин ген”, “Roma tibi subito motibus ibit amor” и др.).

В молекуле ДНК (даже при условиях случайного расположения нуклеотидов) встречаются разные по размерам участки, цепи которых симметричны относительно *оси вращения второго порядка*:



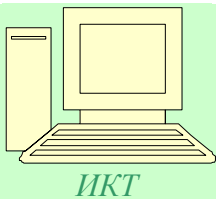
Если в центре этой шестичленной последовательности провести ось перпендикулярно плоскости листа, а потом обернуть эту последовательность на 180°, то получим ту же самую нуклеотидную последовательность. Таким образом, этот нуклеотидный *текст* также можно читать слева направо и справа налево.

Палиндромные последовательности в ДНК являются сайтами узнавания (распознавания) для многих специфических белков. В частности, рестриктаза EcoRI распознает палиндромную последовательность, указанную выше. Считается, что ферменты, аналогичные рестриктазам, скользят вдоль ДНК, и палиндромность сигнальных последовательностей вдвое повышает скорость нахождения нужного участка.

Палиндромные последовательности обязательно содержатся в генах, которые кодируют транспортные РНК (есть они и в структурных генах, кодирующих иРНК, и, в большом количестве - в генах рРНК - **Рис. 6**). Именно благодаря наличию палиндромных участков в ДНК молекулы рРНК и тРНК образуют двухцепочечные фрагменты (шпильки), перемежающиеся с одноцепочечными петлями.



**Рис. 6.** А – последовательность ДНК и рРНК с палиндромными участками, Б – вторичная структура участка рРНК).



ИКТ

### тРНК: модель из бумаги

Присутствующие в структуре транспортной РНК палиндромные последовательности нуклеотидов и непалиндромные участки обуславливают специфическую форму молекулы в виде «трилистника»: соединяясь по принципу комплементарности, они образуют двухцепочечные участки.

Подготовьте в текстовом редакторе и распечатайте бумажную ленту с первичной структурой тРНК (например, приведенную ниже – для упрощения палиндромные участки выделены цветом) и соберите модель молекулы.



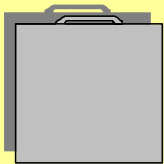
3' АЦЦАЦЦУГЦУЦАГГЦЦУУГЦΨТГГЦЦУЦУГГАГАГГГΨ  
 ЦГІУУЦЦУЦГЦГЦГАУГГЦУГАУГЦГГГАГЦАГГ 5'

Функции нуклеиновых кислот. Мир РНК.

ДНК – выполняет только одну (хотя и очень важную) функцию – сохранения и передачи генетической (наследственной) информации, закодированной в виде последовательности нуклеотидов. Совокупность ДНК организма, организованная в хромосомы (и внехромосомные генетические элементы) называется его **геномом**.

Функции, выполняемые РНК, гораздо многообразнее. Молекулы РНК также способны сохранять наследственную информацию (в РНК-содержащих вирусах), но основная функция РНК в клетках – участие в реализации генетической информации посредством синтеза разнообразных белков. Три основных группы РНК в клетке – информационные (матричные) РНК, транспортные РНК, рибосомальные РНК участвуют в синтезе белков. Не случайно, одной из популярных гипотез происхождения жизни стала гипотеза «Мира РНК», предшествовавшего современному «белковому миру».

Предполагается, что первые белки могли играть вспомогательную роль при первых катализаторах нуклеотидной природы – **рибозимах**. И сейчас многие такие соединения существуют в виде комплекса РНК-белок. Однако белки как катализаторы очень скоро потеснили РНК в качестве ускорителей биохимических реакций. А производная РНК – ДНК, как более стабильная нуклеиновая кислота, оказалась удачной формой хранения генетической информации. Так сложился тот биохимический мир, в котором мы живем.



«Врезка»

### **Это важно** **МИР РНК**

В конце 20-го века в клетках были обнаружены рибозимы – РНК-катализаторы и РНК – регуляторы генной активности. Не исключено, что в ближайшие годы будут новые необычные свойства этого класса соединений. По ряду соображений именно РНК, а не ДНК, представляла собой первичный генетический материал.

Академик Спирин следующим образом сформулировал доводы в пользу этой гипотезы:

*Во-первых*, и в химическом синтезе, и в биохимических реакциях рибонуклеотиды предшествуют дезоксирибонуклеотидам; дезоксирибонуклеотиды – это всегда продукты модификации рибонуклеотидов.

*Во-вторых*, в самых древних, универсальных процессах жизненного метаболизма широко представлены именно рибонуклеотиды, а не дезоксирибонуклеотиды, включая основные энергетические носители типа рибонуклеозид-полифосфатов (АТФ и т.п.).

*В-третьих*, репликация РНК может происходить без какого бы то ни было участия ДНК, а механизм редупликации ДНК даже в современном живом мире требует обязательного участия РНК-затравки в инициации синтеза цепи ДНК.

*В-четвертых*, обладая всеми теми же матричными и генетическими функциями, что и ДНК, РНК способна также к выполнению ряда функций, присущих белкам, включая катализ химических реакций. Таким образом, имеются все основания рассматривать ДНК как более позднее эволюционное приобретение – как модификацию РНК, специализированную для выполнения функции воспроизведения и хранения уникальных копий генов в составе клеточного генома без непосредственного участия в биосинтезе белков.

После того как были открыты каталитически активные РНК, идея первичности РНК в происхождении жизни получила сильнейший толчок к развитию, и была сформулирована концепция *самодостаточного мира РНК*, предшествовавшего современной жизни.

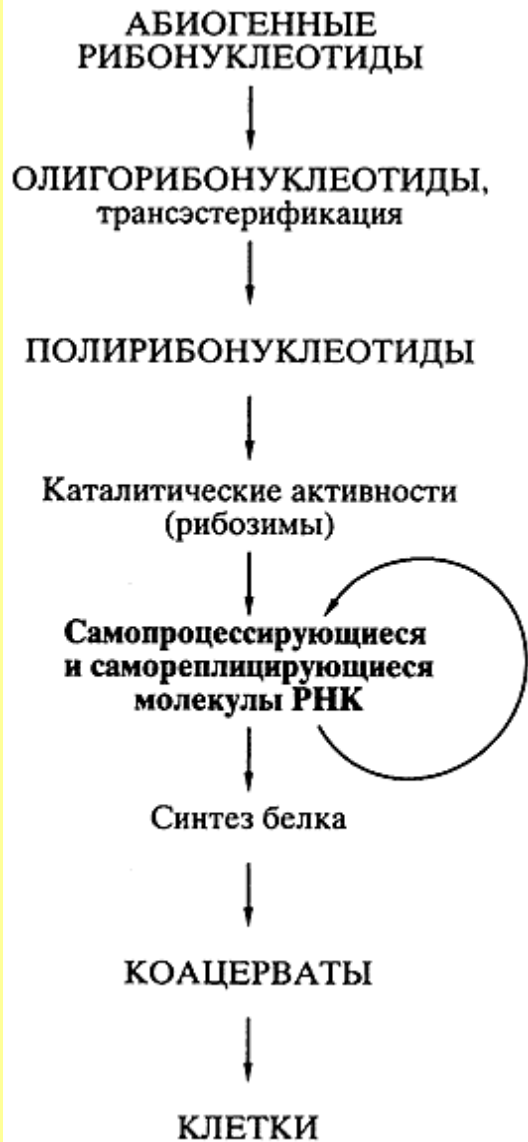
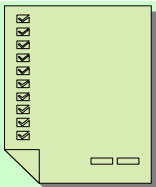


Рис. 5. Возможная схема возникновения мира РНК



### Молекула параграфа

#### АТФ (АТР)

<http://www.ebi.ac.uk/msd-srv/msdchem/cgi-bin/cgi.pl?FUNCTION=getByCode&CODE=ATP> (см. **3-D view**)

Важнейшим нуклеотидом в клетке является **аденозинтрифосфат (АТФ, *англ. ATP*)** — это соединение играет исключительно важную роль в обмене энергии и веществ в организмах; в первую очередь соединение известно как универсальный источник энергии для всех биохимических процессов, протекающих в живых системах - энергетическая «валюта» - клетки. Экономическая аналогия очень точно помогает понять функцию АТФ. Богатство (в экономическом смысле этого слова) можно запасать в самых разных формах – недвижимость, драгоценные металлы и изделия из них, и так далее. Однако для экономического оборота богатство используется в другой форме – денежной. Использование денег значительно упрощает и ускоряет процессы экономического обмена. Точно так же и клетка может запасать энергию в форме



разнообразных макроэргических соединений (углеводы, липиды), для того, чтобы потом обменять это богатство на «единую энергетическую валюту» АТФ и использовать ее непосредственно для энергетического обмена.

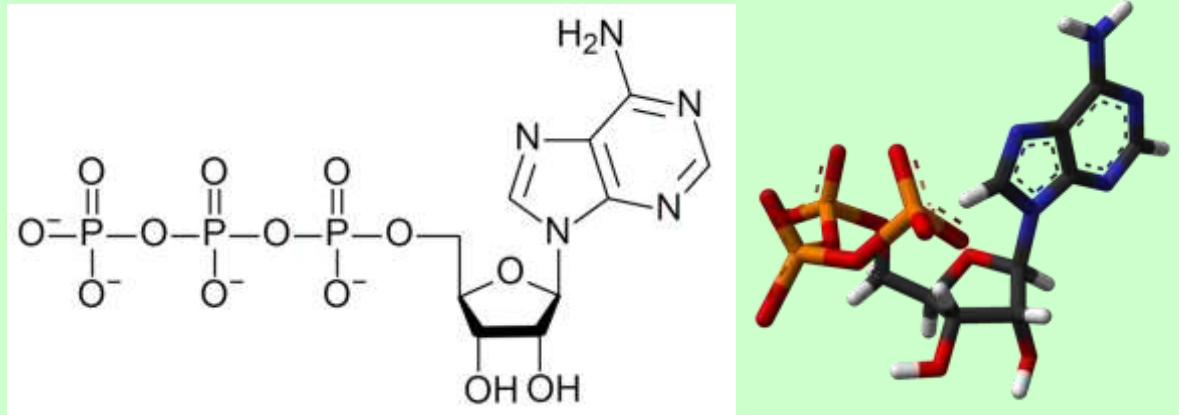
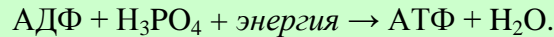


Рис. 6. Формула и трехмерная модель молекулы АТФ

Превращения АТФ в живой клетке описываются уравнением:



Реакции фосфорилирования АДФ и последующего использования АТФ в качестве источника энергии составляют суть энергетического обмена в клетке.

Еще раз подчеркнем, что АТФ является не формой запаса энергии, а главным **непосредственно используемым** источником свободной энергии в биологических системах. В обычной клетке молекула АТФ расходуется в течение одной минуты после ее образования. Оборот АТФ очень высок. Например, человек в покое расходует около 40 кг АТФ за 24 часа. Во время интенсивных упражнений скорость использования АТФ может достигать 0,5 кг/мин. Невольно вспоминается рассказ о Ходже Насреддине, принесшем домой пять фунтов мяса, которые жена во время его отлучки приготовила и съела, а когда Ходжа вернулся домой, сказала, что мясо съела кошка. Как известно, Ходжа Насреддин положил кошку на весы, и когда они показали 5 фунтов, спросил: «Если это кошка, то где же мясо; если это мясо, то где же кошка?»

Экспериментально было показано, что АТФ может образовываться в растворах из АДФ и неорганического фосфата под действием ультрафиолетового излучения. Вероятно, эта реакция использовалась на ранних этапах эволюции жизни для пополнения энергетических ресурсов клетки, что могло дать АТФ преимущество перед другими нуклеотидтрифосфатами и в конечном счете сделало именно это соединение универсальной энергетической валютой клетки.

Энергия, аккумулированная АТФ в виде макроэргических связей, используется клеткой на все процессы, нуждающиеся в энергетических дотациях: осуществление реакций биосинтеза, транспорт веществ (в первую очередь – активный транспорт через плазматическую мембрану), усиление биологических сигналов, движение на всех уровнях – от молекулярного (биение ресничек или работа жгутика сперматозоида) до организменного, выделение света и т.п. Кстати, именно выделение света является применяемой в биологических исследованиях качественной (и полуколичественной) реакцией на наличие АТФ: характерный для многих светящихся организмов, например, светлячков, фермент люцифераза в присутствии АТФ превращает неактивную форму низкомолекулярного вещества люциферина в активную, которая, в свою очередь, и излучает характерный зеленоватый

свет. По свечению можно судить о наличии АТФ и приблизительно – о ее количестве, почему реакция и считается полуколичественной.



[www](http://www)

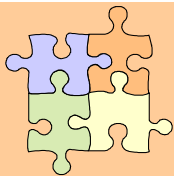
## GENBANK

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Genbank/index.html>

GENBANK – база данных по нуклеотидным последовательностям. Содержит все опубликованные (расшифрованные) последовательности ДНК. В том числе и результаты проекта «Геном человека».



скрин



**Задание**

## ДНК: модель из бумаги

Известная модель ДНК (*Thoki Yenn, design 1985*). Распечатать, обрезать поля, согнуть пополам, прогнуть по жирным линиям *от себя* (как по первому сгибу), по тонким *к себе*. Модель сама свернется в спираль, останется только немного сжать. В модели как раз немного больше одного витка (11 пар нуклеотидов). ([www.kozlenkoa.narod.ru/img/dna\\_ori.pdf](http://www.kozlenkoa.narod.ru/img/dna_ori.pdf))



## Вопросы к параграфу:

- I.1. Почему говорят, что цепи в молекуле ДНК не просто параллельны, а антипараллельны?
- I.2. Если вспомнить, что мономер нуклеиновых кислот, нуклеотид – сложное соединение, то как можно назвать функции, которые выполняют его составляющие?
- I.3. Как вы сформулировали бы ответы на вопросы «Что?» и «Кем?» в определениях терминов: комплементарность, нуклеин, «Мир РНК», «двойная спираль».
- II.1. Как вы думаете, антипараллельны ли двухцепочечные участки в молекулах транспортной и рибосомальной РНК?
- II.2. Активно работающий человек затрачивает до 20 тыс. кДж энергии в сутки. Рассчитайте, сколько раз в сутки должна ресинтезироваться молекула АТФ, если известно, что реально в организме содержится только примерно 50 г АТФ. (Молекулярная масса АТФ 507,2 а.е.м.; считать, что при разрыве макроэргической связи выделяется 40 кДж энергии).
- III.1. Найдите в PDB молекулу тРНК (PDB ID **5tra**) и запишите последовательность азотистых оснований в ней. Постарайтесь найти палиндромные участки.