

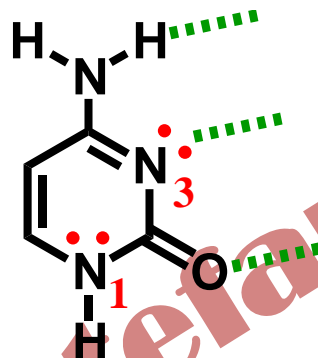
***Copyright* Stefan E. Boiadjev, PhD**
© 2018

42. Нуклеозиди и нуклеотиди. Нуклеинови киселини: структура и супрамолекулна организация. Аденозинфосфати, коензим А, НАД⁺ / НАДН, флавин-аденин-динуклеотид.

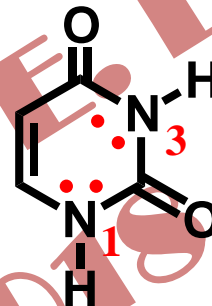
Пиримидиновите нуклеобазы бяха описани в Тема 39

и

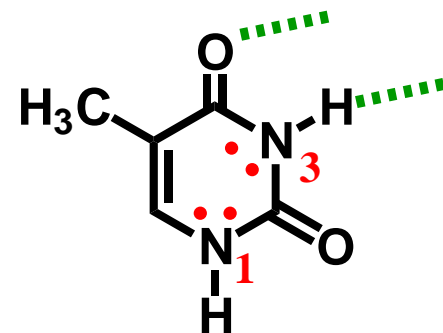
пуриновите бази – в Тема 40.



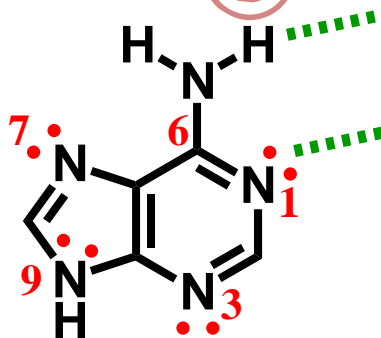
C в ДНК и РНК
цитозин



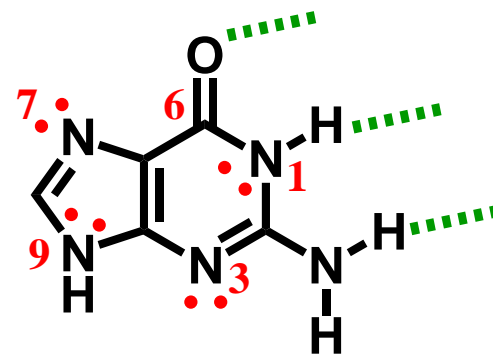
U в РНК
урацил



T в ДНК
тимин

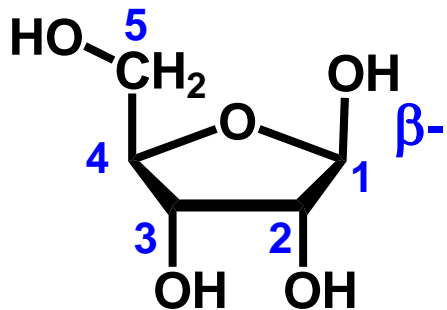


A в ДНК и РНК
аденин

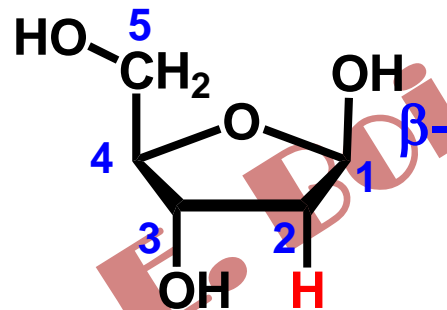


G в ДНК и РНК
гуанин

Въглехидратът е рибоза в РНК и 2-дезоксирибоза в ДНК, в техните фуранозни форми с β -аномерна хидроксилна група (Тема 43).



β -D-рибофураноза

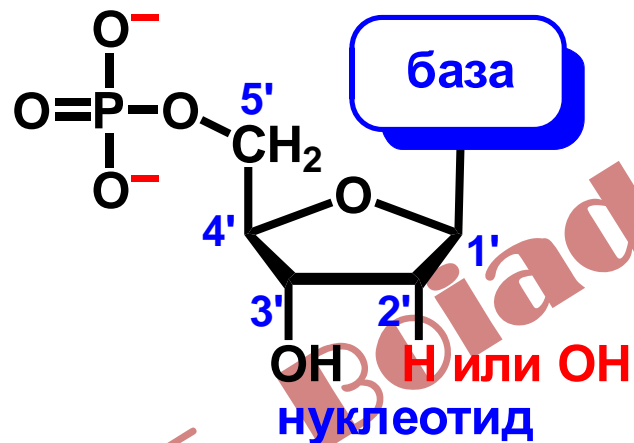
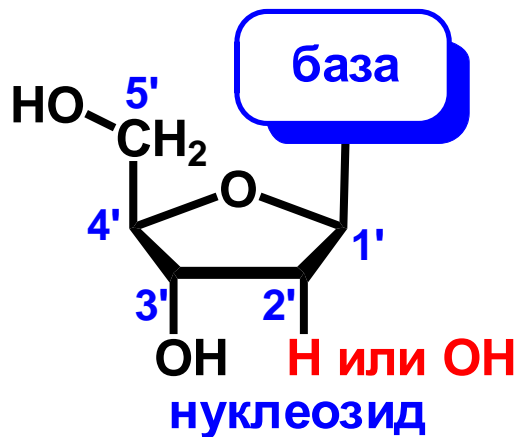


β -D-2-дезоксирибофураноза

Когато аномерната OH група е заменена с пиримидинов или пуринов остатък се формира нуклеозид.

Нуклеозид: N-гликозид на пиримидинова или пуринова база и рибоза или дезоксирибоза. C–N връзката е с аномерния въглерод на захарта и **N-1 от пиримидина** или **N-9 от пурина**.

Нуклеотид: естерифициран с фосфорна киселина по C-5 нуклеозид.



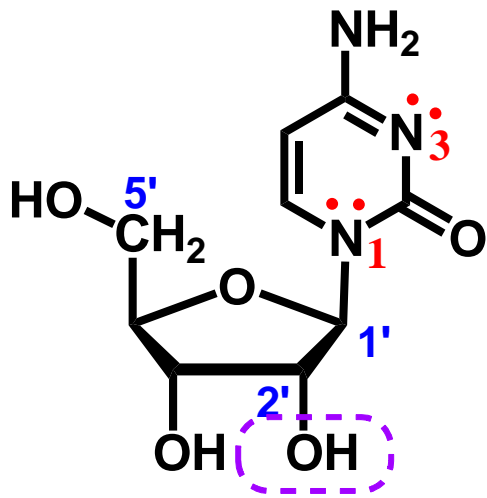
Номерацията на въглеродите се променя с ' , тъй като хетеропръстенът има приоритет.

Стереохимията на гликозидната връзка C-N е β-.

Copyright
PhD, DSC

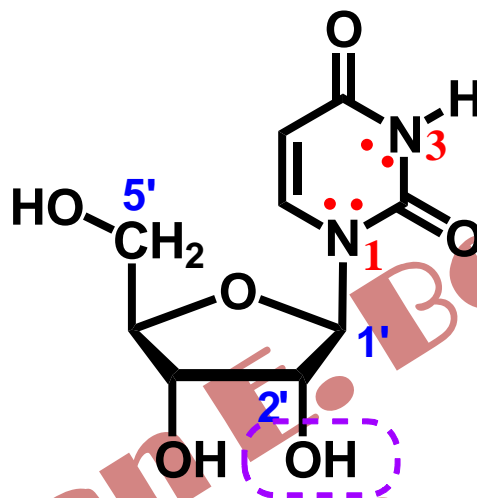
Stefan F. Bojadziev,
© 2018

Нуклеозиди изграждащи РНК:



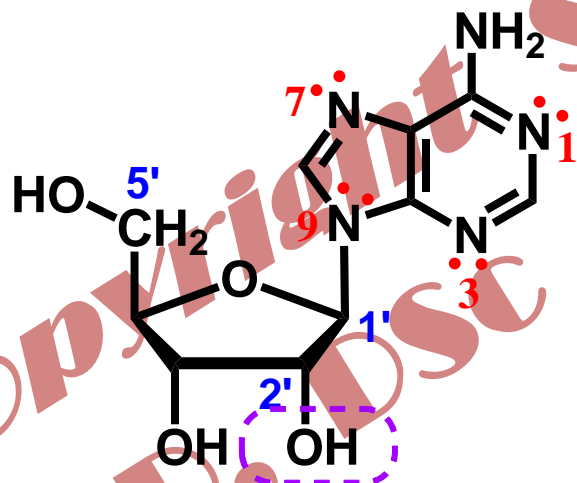
Цитидин (C; РНК)

1-(β-D-рибофуранозил)цитозин



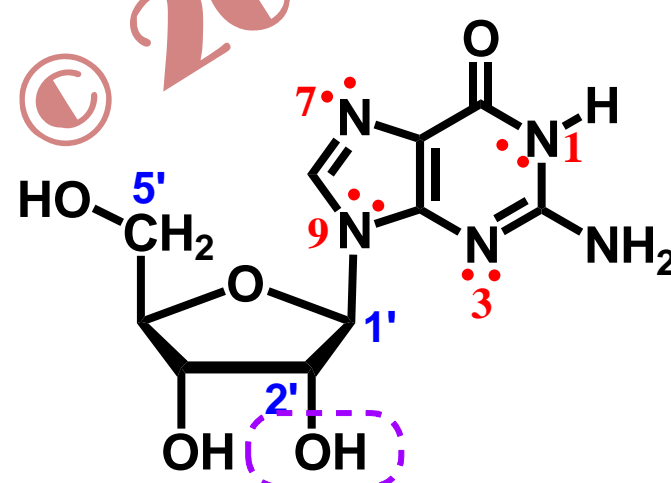
Уридин (U; РНК)

1-(β-D-рибофуранозил)урацил



Аденозин (A; РНК)

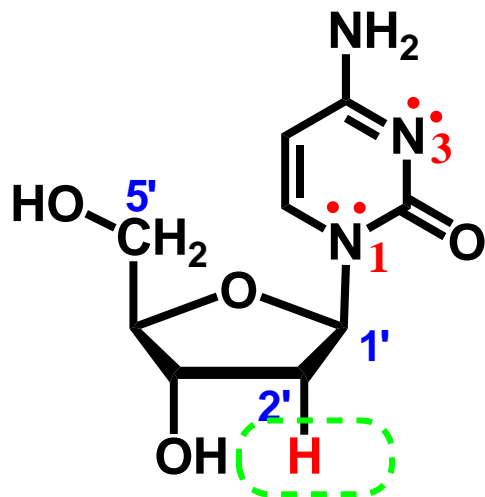
1-(β-D-рибофуранозил)аденин



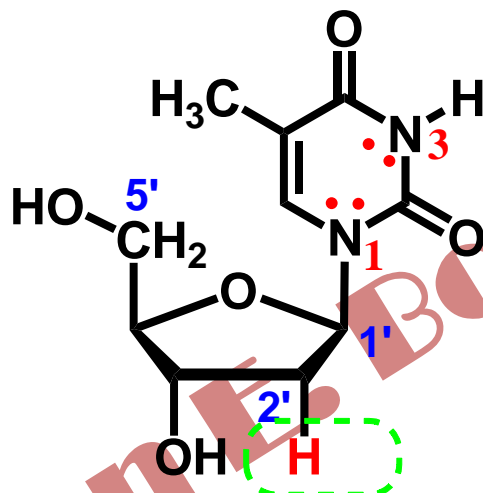
Гуанозин (G; РНК)

1-(β-D-рибофуранозил)гуанин

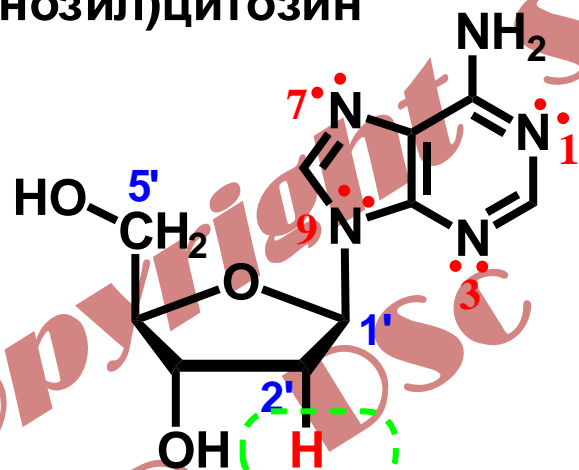
Нуклеозиди изграждащи ДНК:



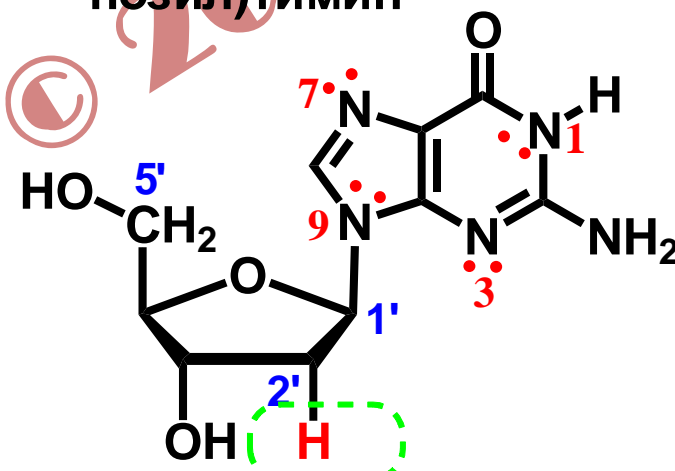
2'-Дезоксицитидин (dC; ДНК)
1-(β -D-2'-дезоксирибофуранозил)цитозин



Тимидин (Т; ДНК)
1-(β -D-2'-дезоксирибофуранозил)тимин

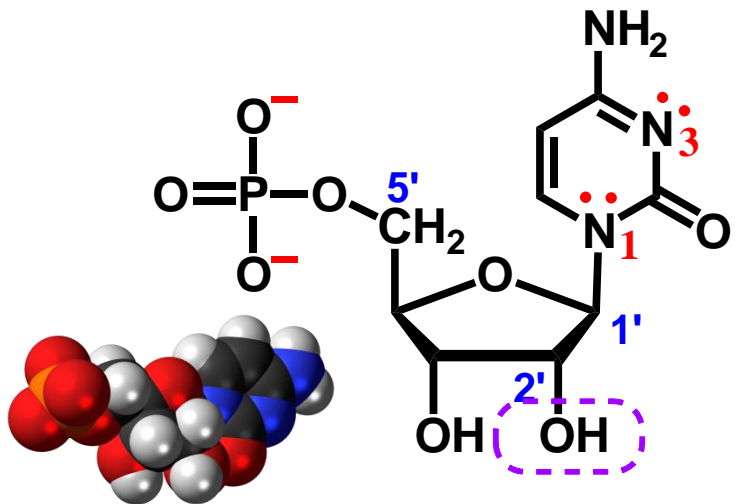


2'-Дезоксиаденозин (dA; ДНК)
1-(β -D-2'-дезоксирибофуранозил)аденин

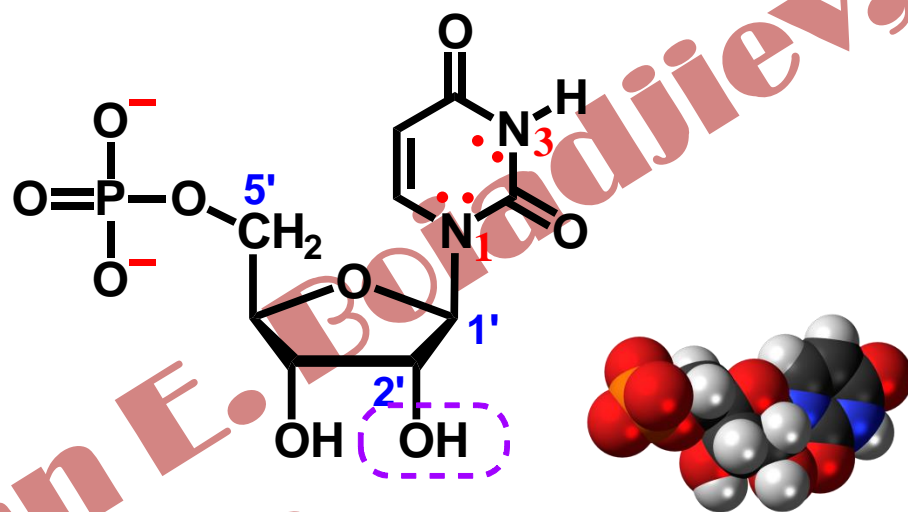


2'-Дезоксигуанозин (dG; ДНК)
1-(β -D-2'-дезоксирибофуранозил)гуанин

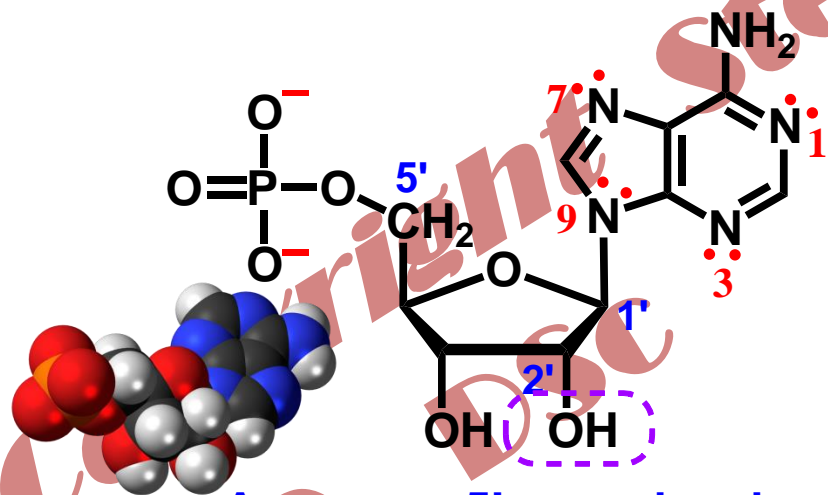
Нуклеотиди изграждащи РНК (нуклеотид = нуклеозид + фосфат):



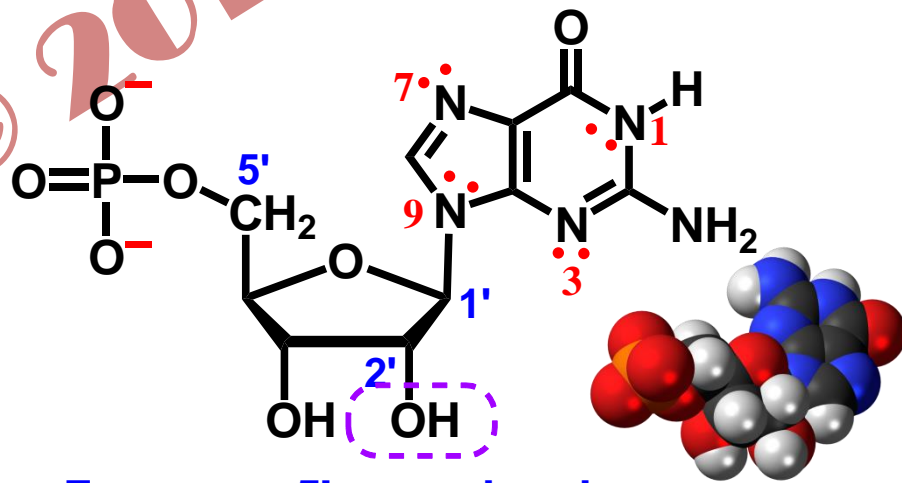
Цитидин 5'-монофосфат
(**CMP**, цитидилова к-на)



Уридин 5'-монофосфат
(**UMP**, уридилова к-на)



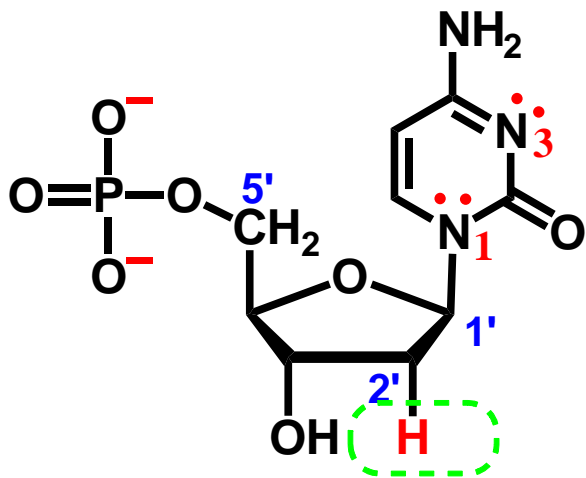
Аденозин 5'-монофосфат
(**AMP**, аденилова к-на)



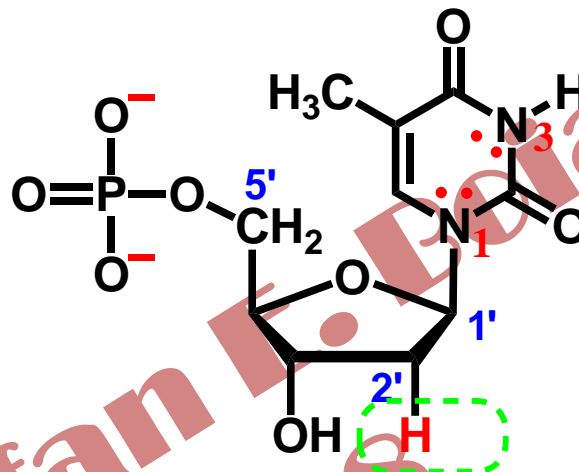
Гуанозин 5'-монофосфат
(**GMP**, гуанилова к-на)

Забележете: фосфатните групи са йонизирани при физиологично рН.

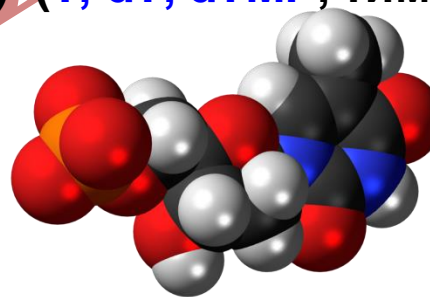
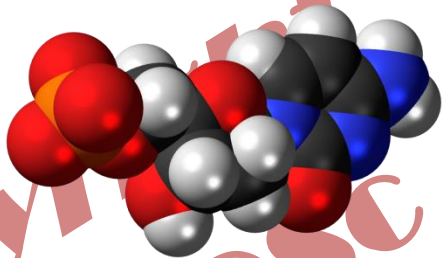
Нуклеотиди изграждащи ДНК (нуклеотид = нуклеозид + фосфат):



Дезоксицитидин 5'-монофосфат
(C, dC, dCMP, дезоксицитидилова к-на)

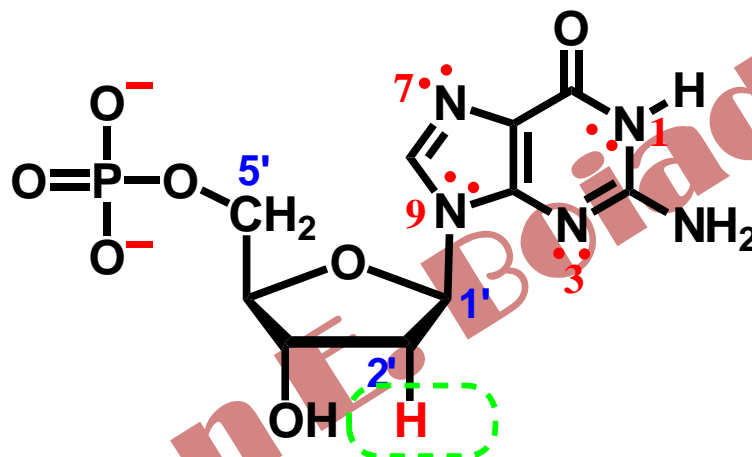
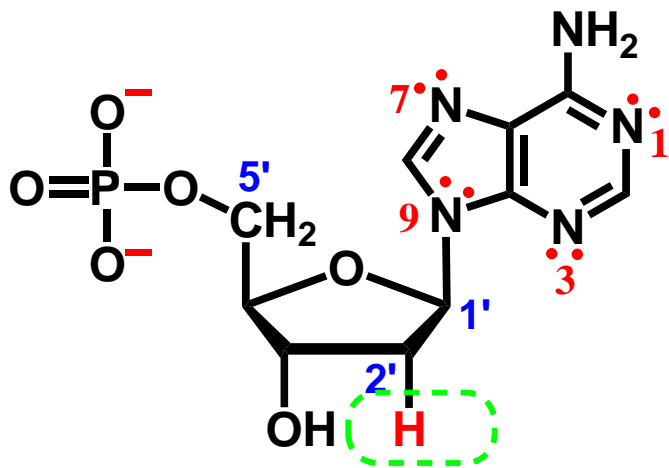


Тимидин 5'-монофосфат
(T, dT, dTMP, тимидилова к-на)

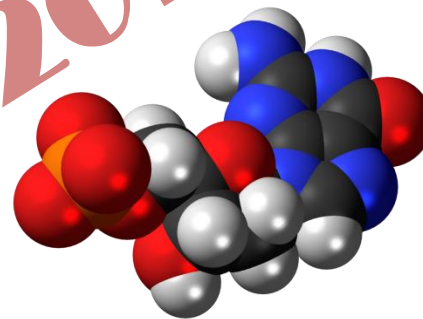
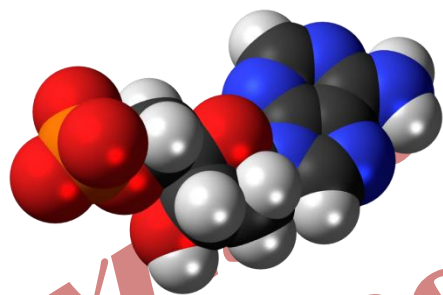


Връзката нуклеозид–фосфат е фосфоестерна, а в нуклеиновите киселини е фосфодиестерна между два нуклеотида. «d» се подразбира обсъждайки ДНК.

Нуклеотиди изграждащи ДНК (нуклеотид = нуклеозид + фосфат):



Дезоксиаденозин 5'-монофосфат (A, dA, dAMP, дезоксиаденилова к-на) Дезоксигуанозин 5'-монофосфат (G, dG, dGMP, дезоксигуанилова к-на)



Връзката нуклеозид–фосфат е фосфоестерна, а в нуклеиновите киселини е фосфодиестерна между два нуклеотида. «d» се подразбира обсъждайки ДНК.

В резюме:

в ДНК	A, C, G, T	и	дезоксирибоза
в РНК	A, C, G, U	и	рибоза

Нуклеинови киселини: структура и супрамолекулна организация

Исторически важни дати:

- 1869 г. –** изолирана ДНК от Фр. Мийшер; съдържа се в ядрото на еукариотни клетки;
- 1944 г. –** експериментално доказателство от О. Ейвъри, М. Маклауд и М. Маккарти, че ДНК е веществото, което предизвиква бактериална трансформация. Следователно, не протеините, а ДНК пренася генетичната информация;
- 1950 г. –** Ър. Чаргаф с химичен анализ изследва ДНК от много организми и открива, че въпреки вариациите в количеството А, Т, С и G, то винаги $[A] = [T]$ и $[C] = [G]$ – **Правило на Чаргаф**. Съотношението не се променя с възрастта на организма и е валидно за всички тъкани.
- 1953 г. –** Дж. Уотсън и Фр. Крик установяват **вторичната структура на ДНК; двойната спирала.**

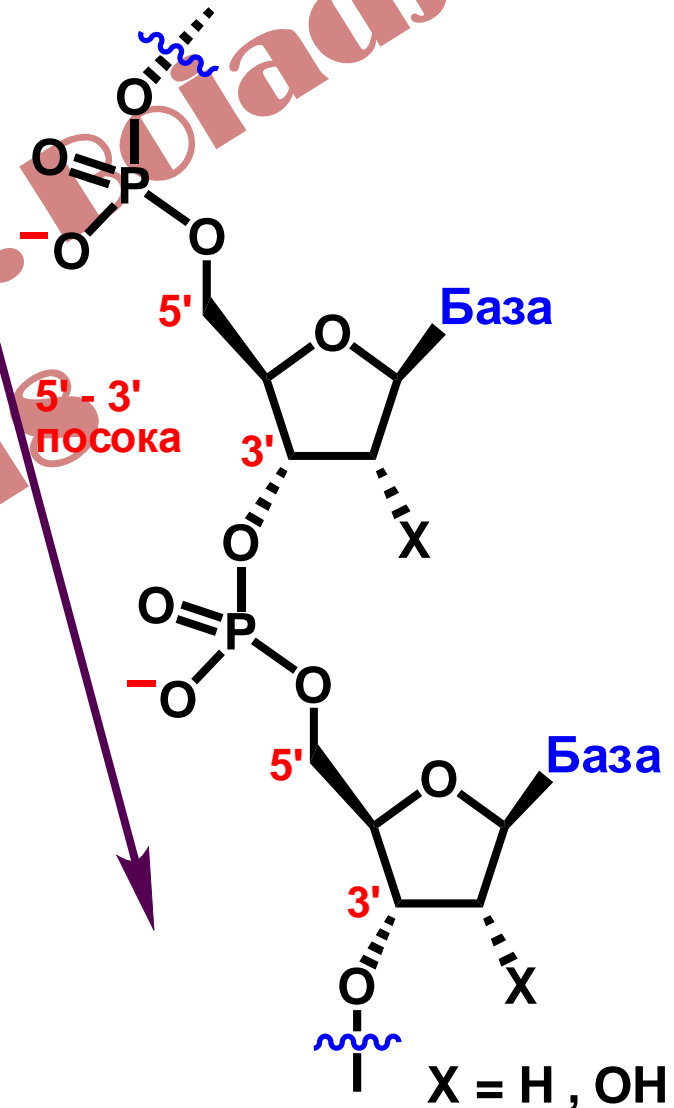
Първичната структура се нарича секвенция. Тя описва последователността на нуклеотидите в полимерната верига и напълно дефинира ковалентната структура на цялата молекула.

Веригата в ДНК и РНК е полиестер, образуван от поликондензация на мононуклеотиди. Те са свързани чрез фосфодиестерни връзки след кондензация на ОН група от фосфатен остатък с ОН група на С-3' в (дезоксид)рибофуранозния остатък. Двата края на молекула ДНК се означават с **5'-край**, съдържащ фосфатния остатък на С-5' и **3'-край**, съдържащ ОН група на С-3'.

Съгласно конвенцията, секвенцията се записва от 5'-края към 3'-края, напр.

5' А А Г Т С С А Т Г 3'

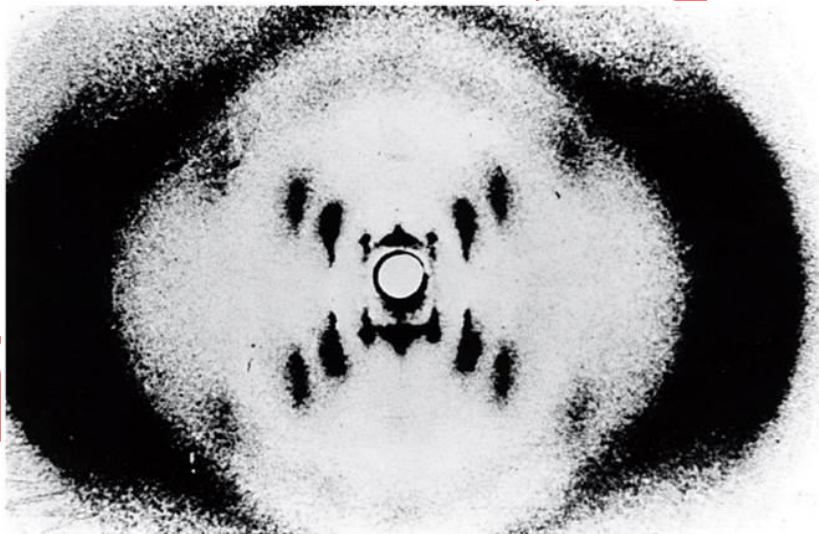
(Секвенцията не обяснява правилото на Чаргаф.)



Вторична структура на нуклеинови киселини (НК)

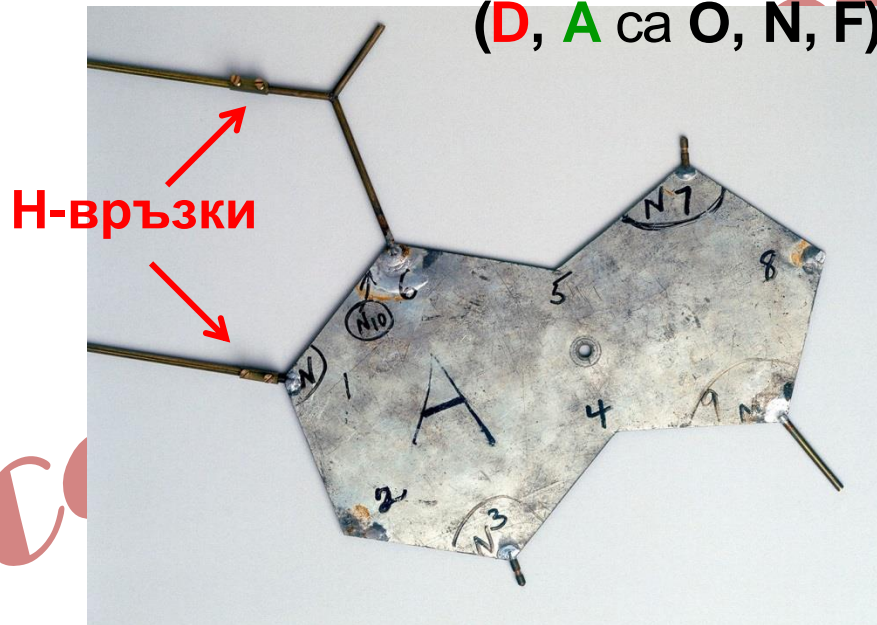
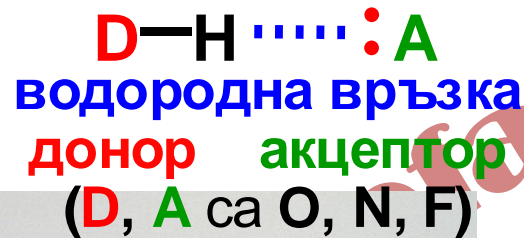
Установена в 1953 г. чрез рентгеноструктурен анализ в Кеймбридж (Фр. Крик и Дж. Уотсън) и Кингс Колидж (Р. Франклин и М. Уилкинс), Англия (в „бясна“ конкуренция с Л. Полинг, вече предложил в 1951 г. α -спирален модел на протеинова верига.)

Най-съществената информация за спиралната структура на ДНК е снимка 51, получена от Р. Франклин в 1952 г. М. Уилкинс, с когото са в разногласие, показва снимката на Фр. Крик и Дж. Уотсън, които извличат от нея структурните характеристики и създават модела на двойната спирала.

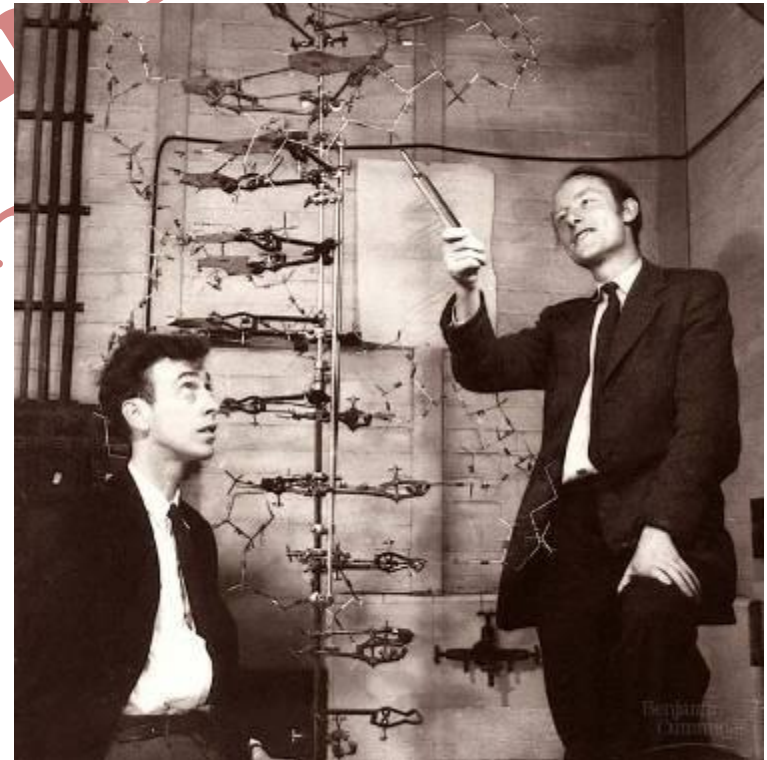


Розалинд Франклин 1920-1958

Важният проблем, решен от Фр. Крик и Дж. Уотсън е бил как са ориентирани и стиковани базите. Те се свързват с водородни връзки. Използвайки точни модели учените построяват съответна на XRD структура, в която пиримидинова база се свързва с пуринова база и то винаги цитозин с гуанин и тимин с аденин и тези двойки лежат във вътрешността на двойна спирала от антипаралелни полимерни фосфат-дезоксирибоза вериги.

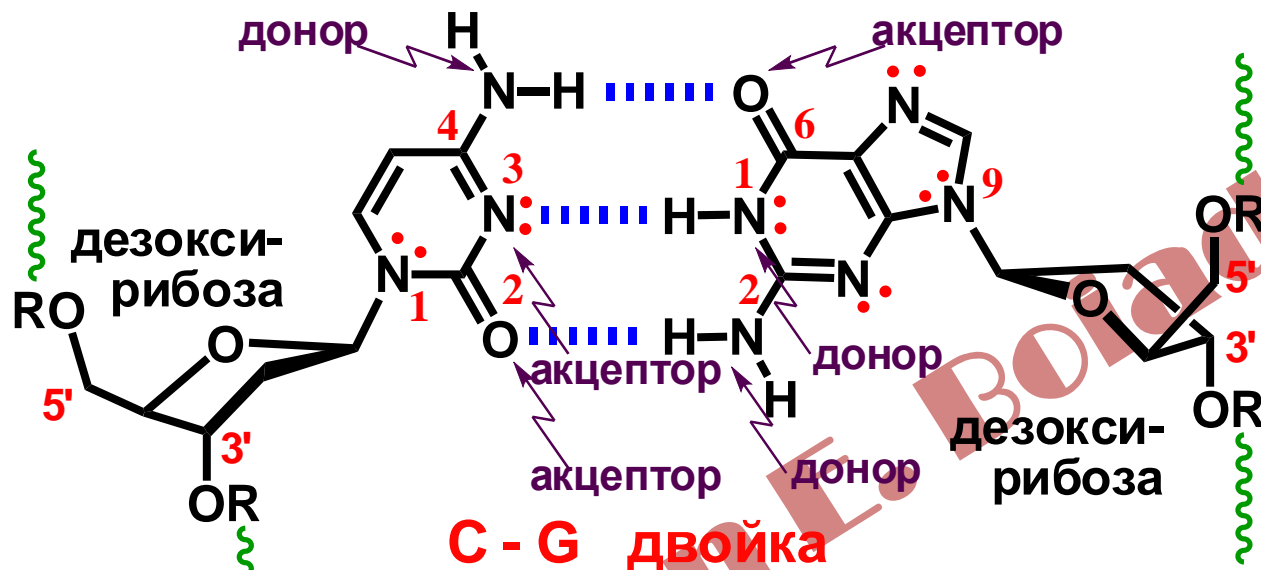


Модел на аденин



Дж. Уотсън

Фр. Крик

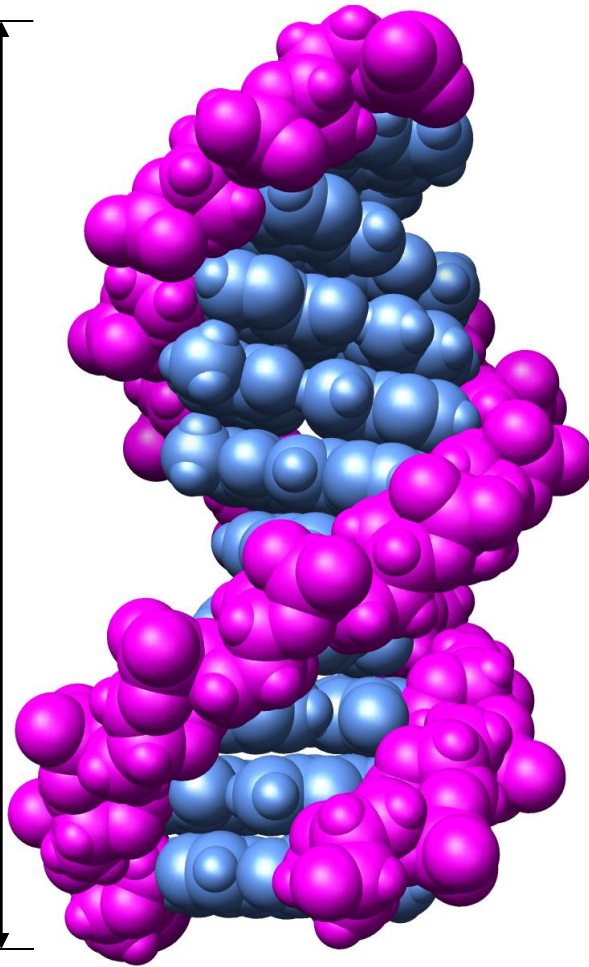


Комплементарни двойки цитозин-гуанин и тимин-аденин поради водородните връзки между тях.

Двойно-спирална ДНК

една
спирална
витка 34Å

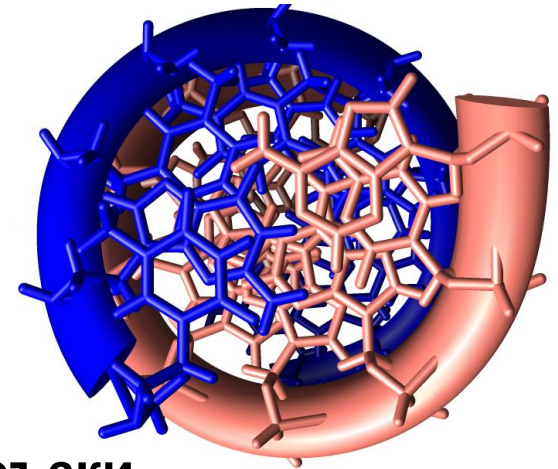
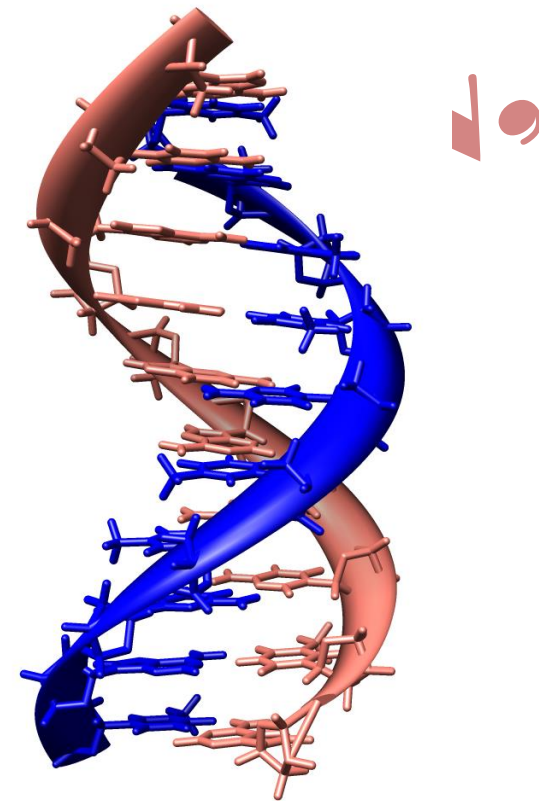
10.6 двойки



диаметър 10 Å = 1 nm

главна
бразда
12 Å

по-малка
бразда
6 Å



скелет: дезоксирибоза и фосфодиестерни връзки
бази

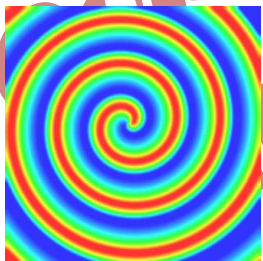
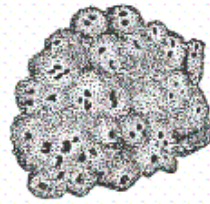
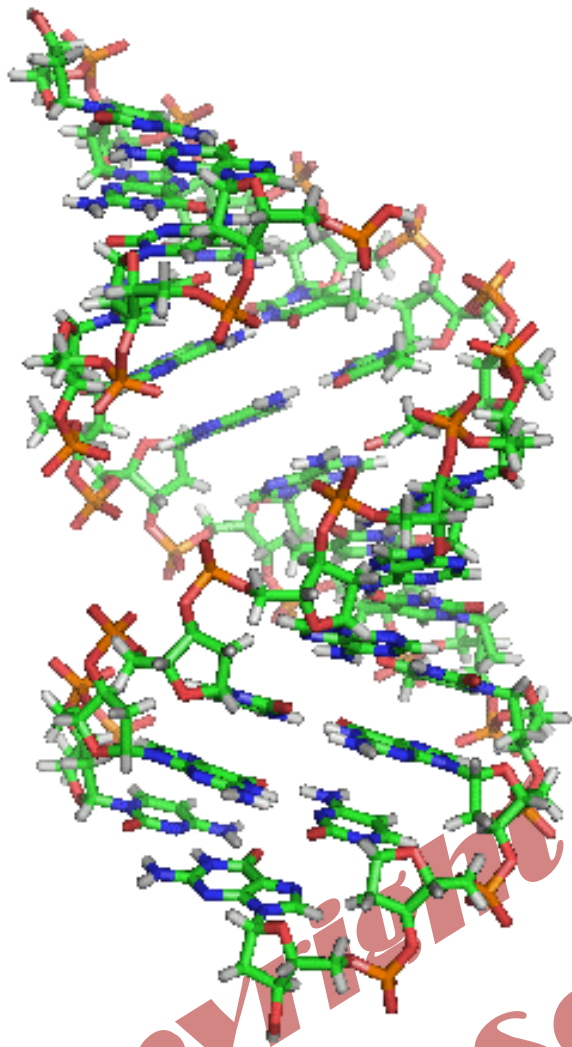
Двете вериги са навити заедно около централна ос. Двойката вериги е с радиус 1 nm и разстояние между витките 3.4 nm (Watson JD, Crick FH. *Nature* 1953, 171 (4356): 737-738. **Статия от една страница!**). Всяка витка съдържа 10.6 азотни бази. Вътрешността на двойно-спиралната ДНК е хидрофобна, а външно разположените фосфодиестерни вериги са хидрофилни – на всяка една O–P–O връзка съответства по един (–) заряд.

Комплементарната нишка на ДНК секвенцията

5' AAGTCCATG 3' е
3' TTCAGGTAC 5'

Комплементарността позволява, след разсукване по време на клетъчното делене, да се синтезират 2 копия, които са идентични на оригинала. По-този начин дъщерната клетка получава същата генетична информация както родителя.

Преносът на информация е съществен принос за развитието на молекулната биология. Три последователни двойки се наричат кодон, който отговаря за кодиране на една единствена аминокиселина.



Добра визуална представа за двойната спирала са спирални стълби, но не и усукани един около друг конци (нишка, чиле).
Double helix (spiral е винтова линия).



Нобелова награда за физиология или медицина, 1962 г. «за откритията им на структурата на нуклеинови киселини и нейното значение за пренос на информация в живи организми»



**Франсис Крик
1916-2004**



**Джеймс Уотсън
1928**

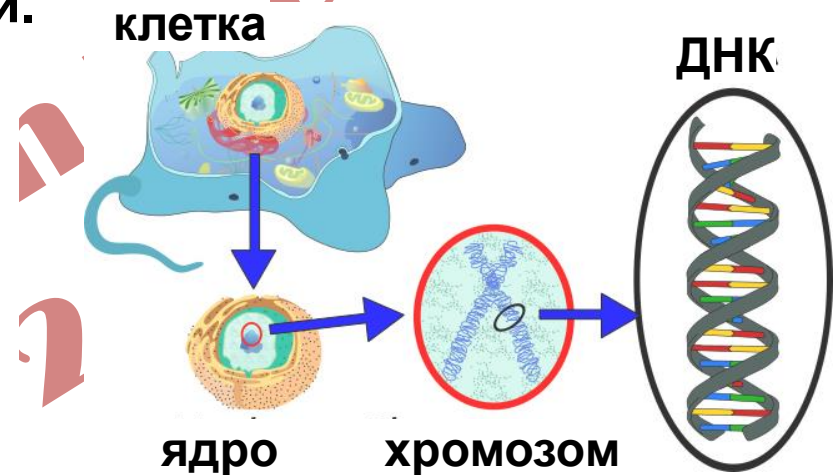


**Морис Уилкинс
1916-2004**

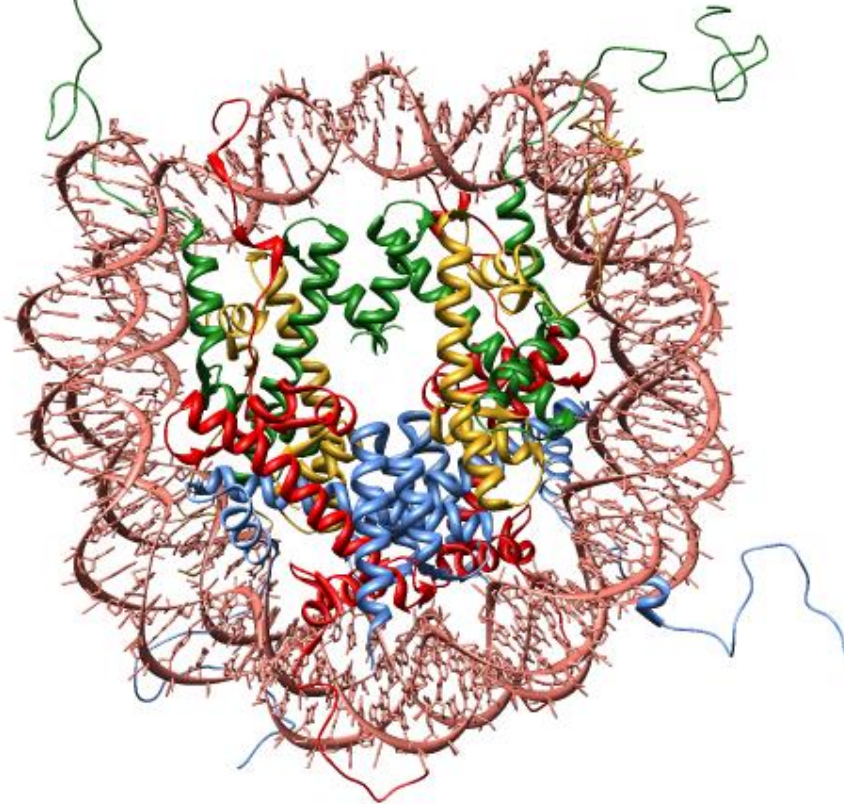
Р. Франклин не получава Нобелова награда в 1962 г. защото умира по-рано; една очевидна несправедливост.

Резултатите на Франклин и Уилкинс (поотделно) излизат в същия брой на сп. *Nature*, в което Уотсън и Крик публикуват своята кратка, но известна статия.

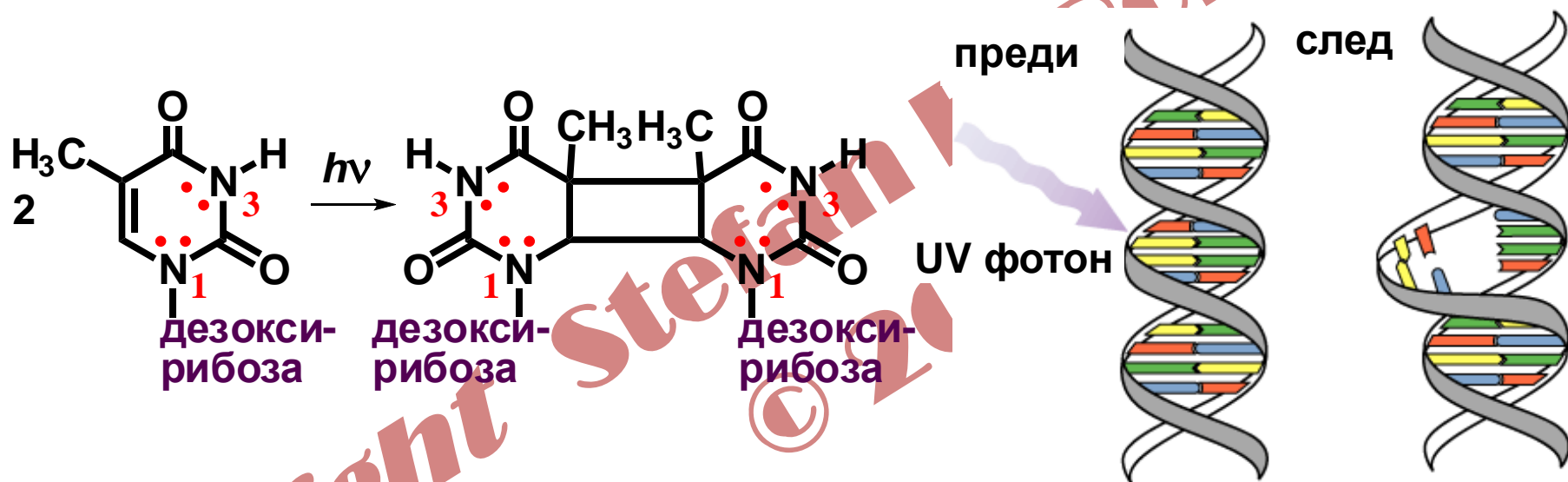
ДНК е огромна молекула, организирана в хромозоми. Един хромозом съдържа много гени. Човешкият хромозом №1 има ~ 220 милиона двойки. Генът е най-малката функционална единица за наследственост. По време на клетъчното делене ДНК се **реплицира**, което доставя на всяка клетка собствен комплект хромозоми. Целият човешки геном се съдържа в 46 хромозома и се оценява на $\sim 3 \cdot 10^9$ нуклеодвойки.



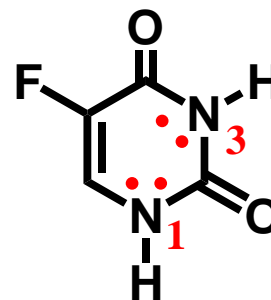
Третична структура на ДНК
Свръхнамотки (supercoiling)
ДНК е „пакетирана“ чрез увиване около ядро от протеини – хистони, които са богати на лизин и аргинин.



Някои дефекти, **мутации** се дължат на фотохимична реакция *in vivo* между два съседни тимина. Под въздействие на UV светлина се индуцира формиране на ковалентни мостове между C атоми от двойните C=C връзки на тимин, което дава димери. Тази мутация е отговорна за меланома, рак на кожата.



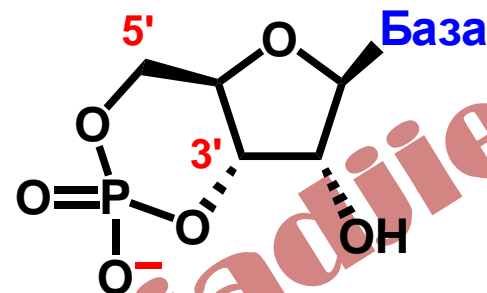
Тиминът е мишена за хемотерапевтичното действие на 5-флуороурацил. Той инхибира синтеза на нуклеозида тимидин и, съответно, ДНК репликацията в бързо делящите се ракови клетки.



5-флуороурацил

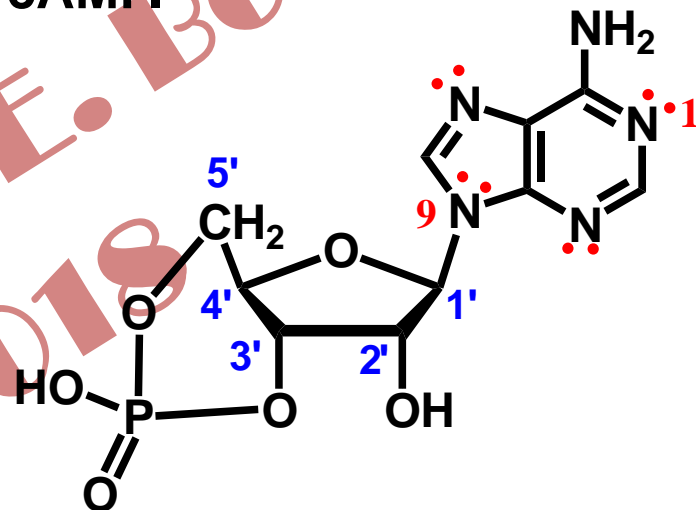
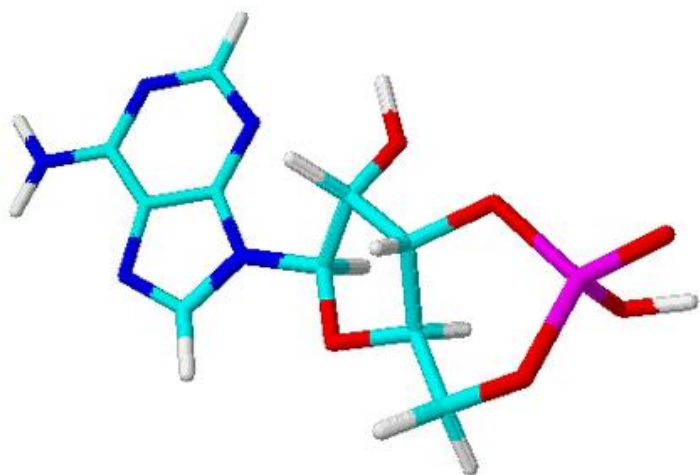
Аденозинфосфати

Циклични нуклеотиди се образуват когато фосфатната група е свързана с две от хидроксилните групи в захарта.



3',5'-цикличен фосфат

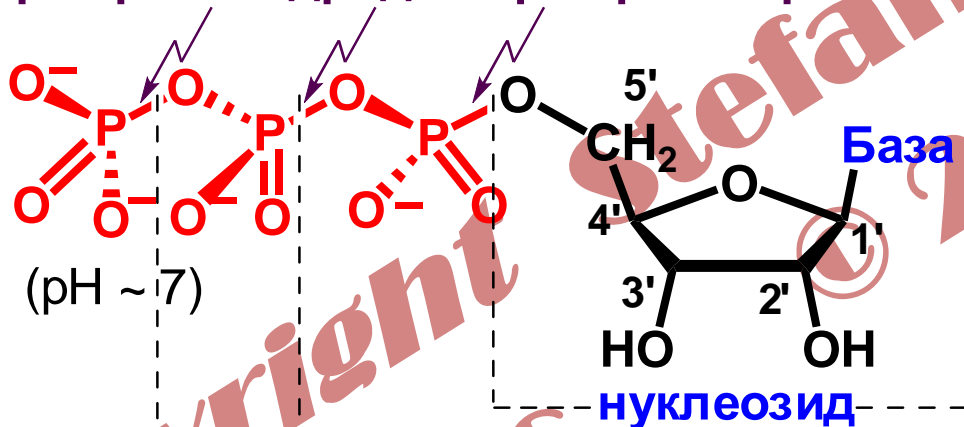
Цикличен аденозин монофосфат, англ. cAMP.



cAMP е вътрешноклетъчен преносител на сигнал (вторичен посредник, куриер), напр. ефекти на хормони като глюкагон и адреналин, които не могат да преминат през клетъчната мембрана – трансдукция на сигнал. cAMP участва в **активиране на ензими**, регулира ефектите на адреналин и глюкагон и регулира преминаването на Ca^{2+} през йонни канали в мембраната. cAMP произлиза от аденозин трифосфат (АТФ).

Свързване на втора фосфатна група към мононуклеотид дава **нуклеотид дифосфат**, и на трета – **нуклеотид трифосфат**. Трифосфатите са с изключителна важност – ЦТФ (англ. CTP) е цитидин трифосфат; УТФ (UTP) е уридин трифосфат; **АТФ (ATP)** е **аденозин трифосфат**. Връзката между два остатъка от фосфорна киселина е **фосфоанхидридна (пирофосфатна)**.

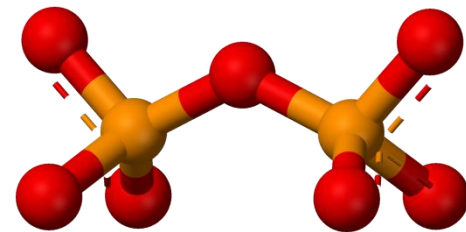
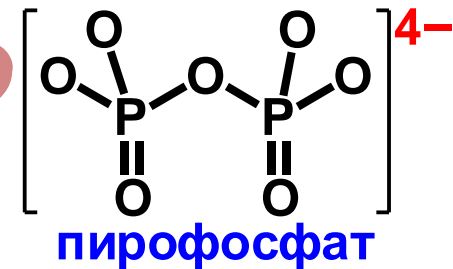
фосфоанхидридни фосфоестерна



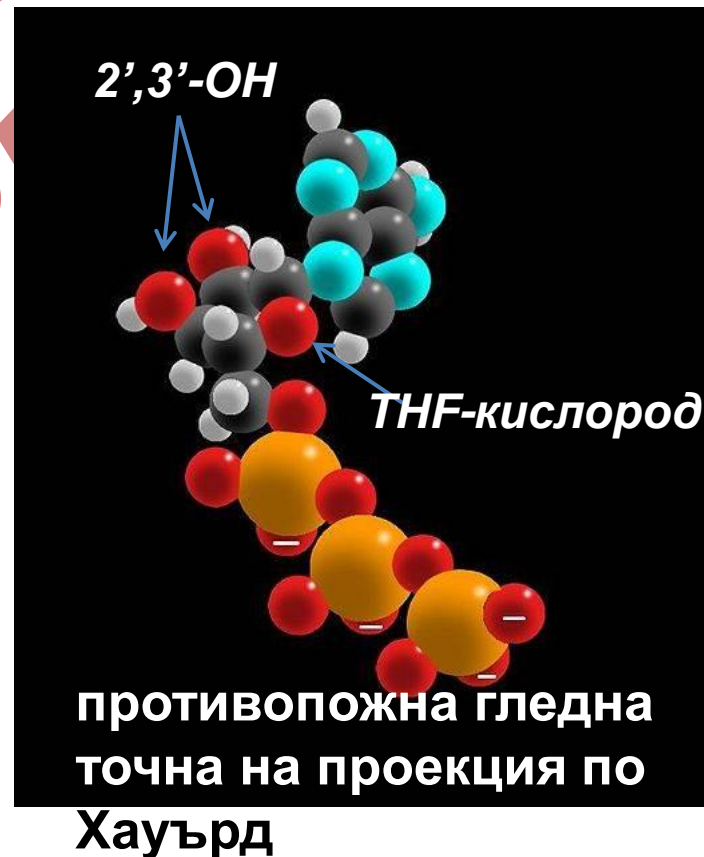
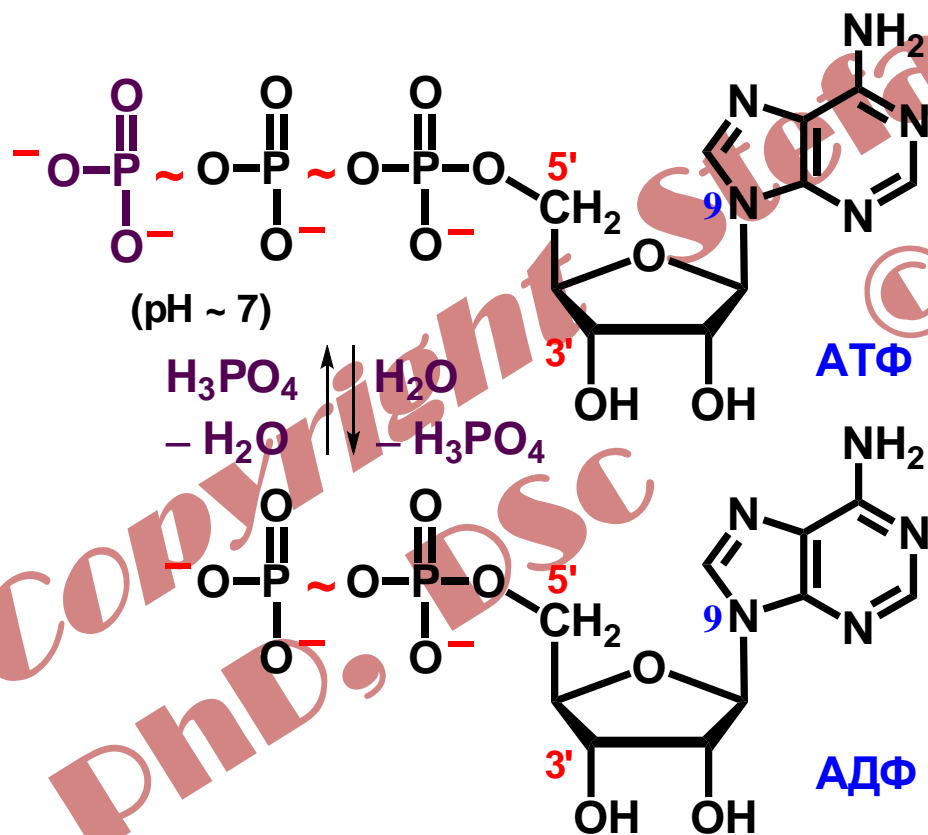
нуклеотид монофосфат

нуклеотид дифосфат

нуклеотид трифосфат



Аденозин-5'-трифосфат (АТФ, англ. АТР) е мултифункционален нуклеотид. Една молекула АТФ съдържа три фосфатни групи. Тя се синтезира от неорганичен фосфат и аденозин дифосфат (АДФ) или аденозин монофосфат (АМФ) чрез фосфорилиране и клетъчно дишане. Реакцията **АДФ → АТФ** с участие на ензима **АТФ синтаза** е ендотермична и енергията на новообразуваната O–P–O връзка се съхранява в АТФ. Тази енергия се освобождава в редица биохимични реакции където и когато е необходима.



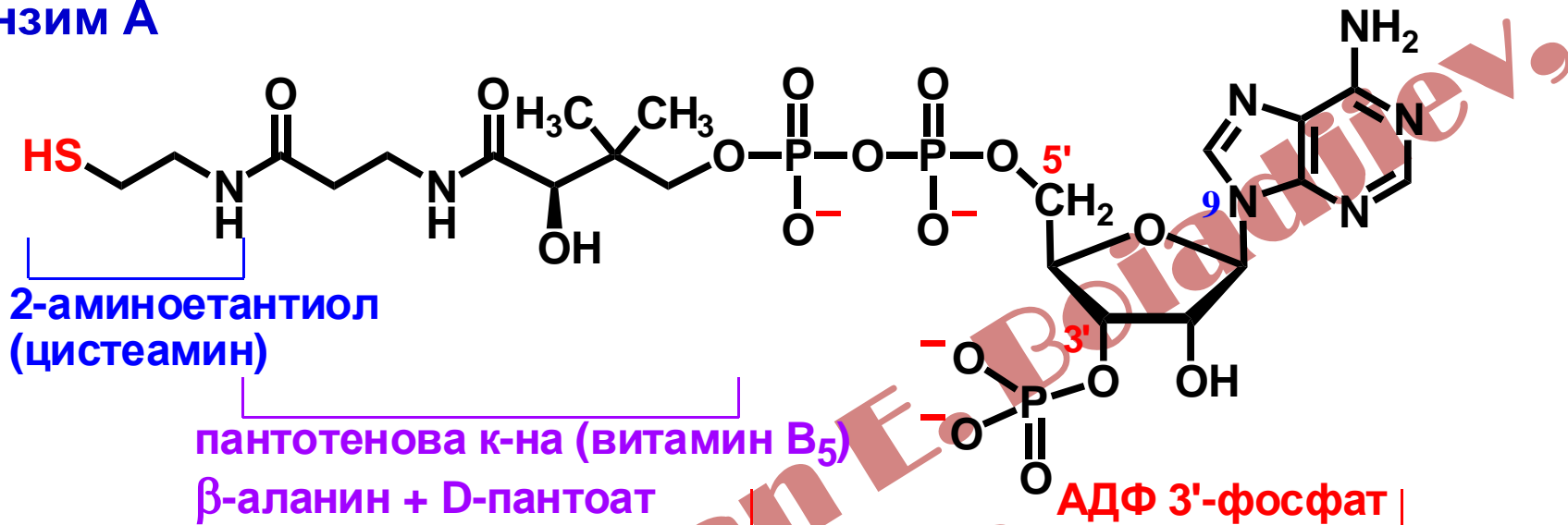
АТФ е коензим в клетките. Описва се като хранилище на енергия и "молекулна единица валута" за вътрешномолекулен трансфер на енергия. **АТФ пренася химична енергия вътре в клетките за метаболизма им.** Използва се от ензими и структурни протеини в много клетъчни процеси: биосинтетични реакции, клетъчно движение и делене. Метаболитните реакции използващи АТФ като енергиен източник го превръщат обратно до предшествениците му. **АТФ непрекъснато рециклира до АДФ и обратно. Човек превръща количество АТФ равно на собственото си тегло всеки ден!**



Една система, която е далече от равновесие притежава свободна енергия на Гибс и е способна да върши работа. Живите клетки поддържат съотношение АТФ / АДФ много далече от равновесие, с концентрация на АТФ хилядократно превишаваща АДФ.

Изместването от равновесие означава, че **хидролизата на АТФ освобождава голямо количество енергия.** $\Delta G < 0$ поради по-малка здравина на връзките между фосфатните остатъци в АТФ от енергията на "хидратиране" между продуктите и водата.

Коензим А



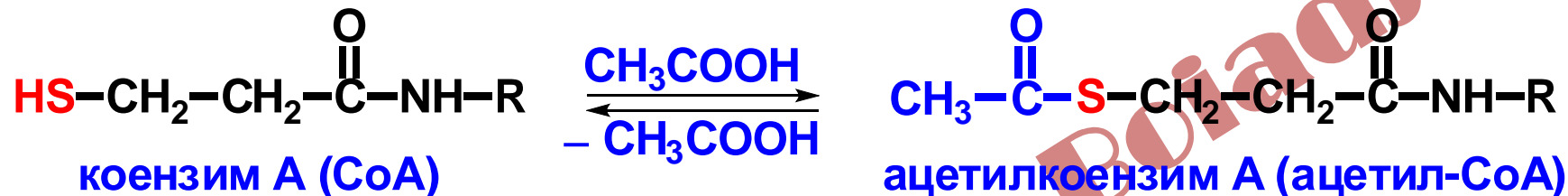
Молекулата коензим А е образувана чрез естерно свързване на АДФ-3'-фосфат с първичната ОН на пантотенова к-на, която е формирала амид с 2-аминоетантиол (β -меркаптоетиламин е остаряло). Коензим А има решаващо значение за интегрирания метаболизъм.

Коензим А е един тиол. Сярата е добър нуклеофил!

Затова е толкова активна в коензим А.

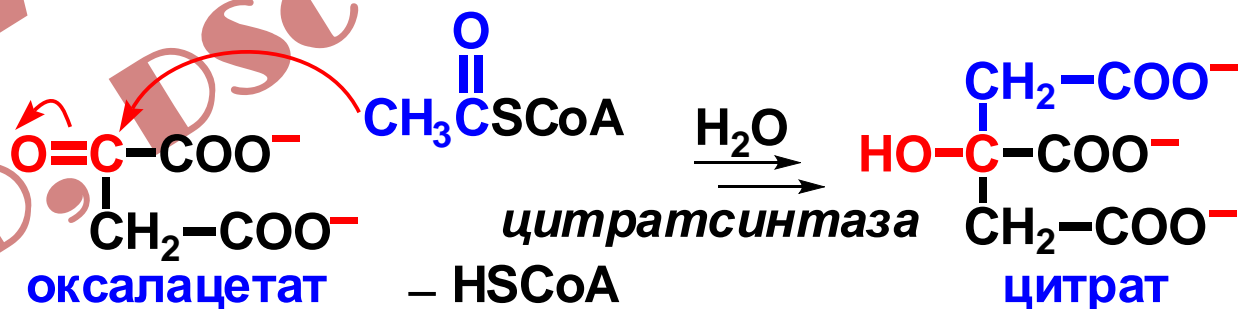
Уместен пример от биохимията – **Коензим А (CoA) образува лесно и разкъсва лесно тиоестери** чрез сулфанилната група, SH.

Коензим А се ацилира лесно от карбоксилни киселини (R-COOH) с участието на АТФ, напр. от оцетна киселина до **ацетилкоензима А** (ацетил-CoA).

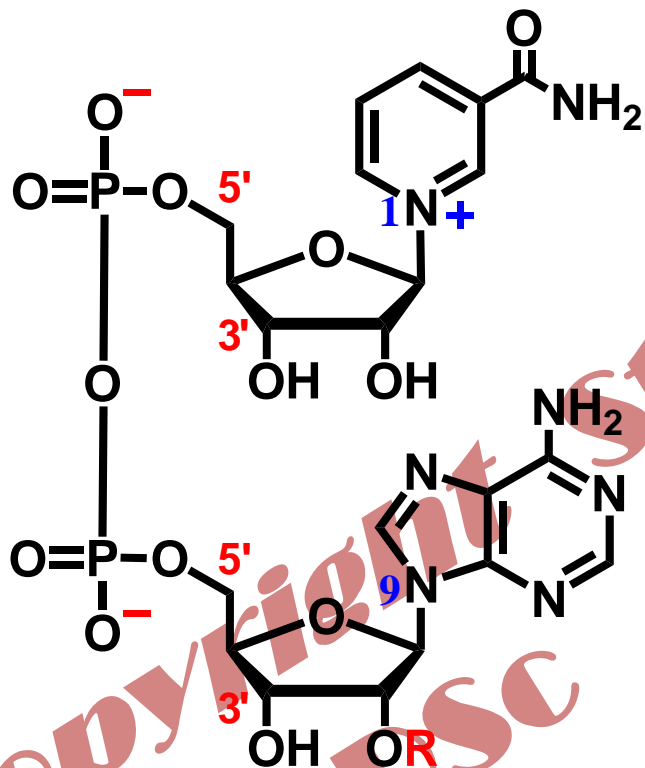


Ацетилкоензим А е универсален ацилиращ реагент, **преносител на ацилна група**, в биосинтетични реакции, напр. получаване на естер от алкохолен субстрат, до негов ацетат.

Ацетил-CoA участва като СН киселина в алдолни реакции, каквато е преносът на ацетилна група към оксалацетат до цитрат на входа на цикъла на Кребс (Тема 27, оксалацетат – цитрат).



НАД⁺ / НАДН и фосфорилираните **НАДФ⁺ / НАДФН** са едни от най-важните динуклеотидни **коензими**, чиято роля е да пренасят електрони от една молекула към друга **в разнообразни ензимни окислително-редукционни реакции**. Този клас реакции се катализират от голяма група ензими – **оксидоредуктази**.



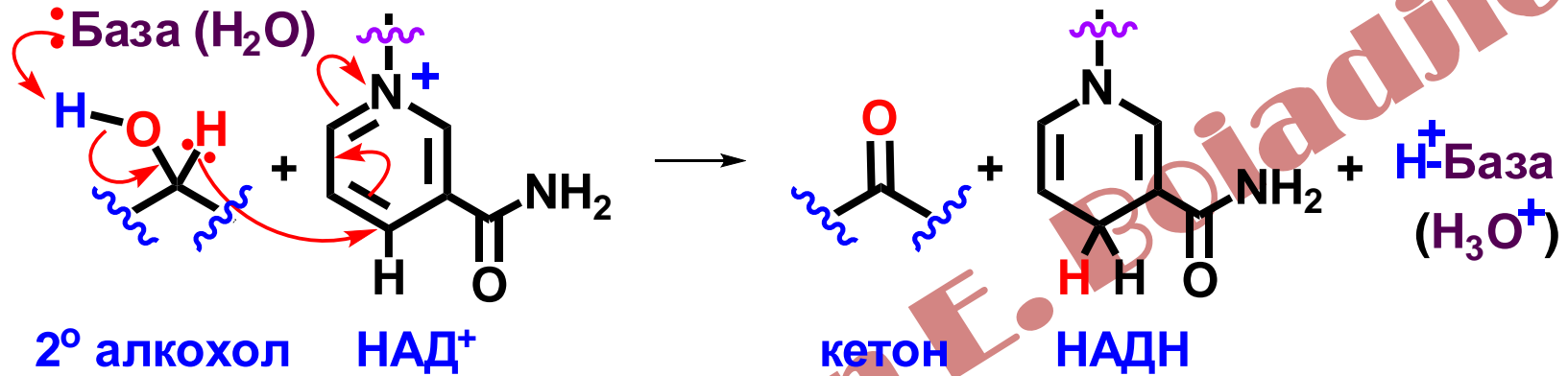
Нуклеотидът аденозин монофосфат е свързан през фосфоанхидридна връзка с нуклеотид съдържащ никотинамид (витамин В₃, ниацин, Тема 36). Никотинамидната основа е β-гликозидно скачена с рибозата чрез N атома, който е положително зареден в НАД⁺.

R = H НАД⁺ (NAD⁺)

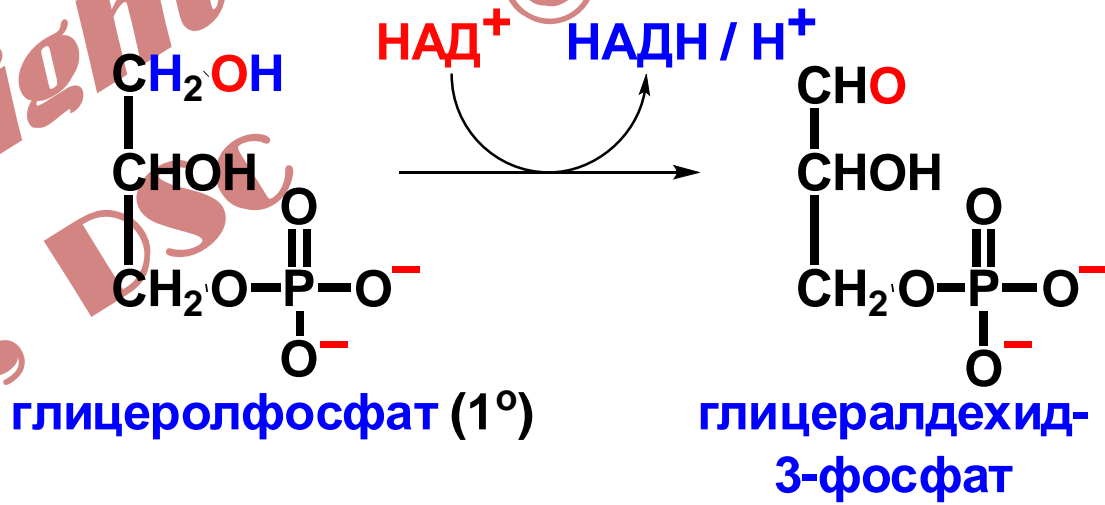
никотинамид аденин динуклеотид

R = PO₃²⁻ НАДФ⁺ (NADP⁺)

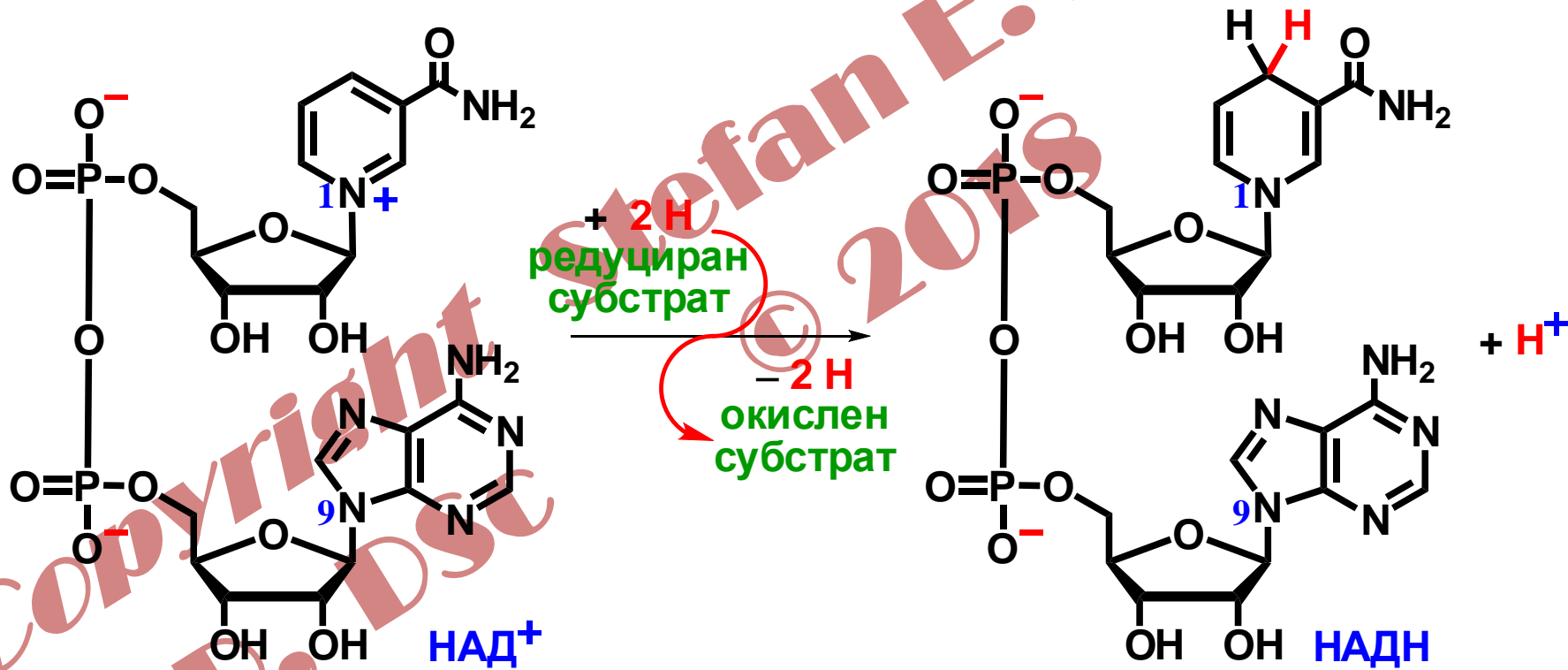
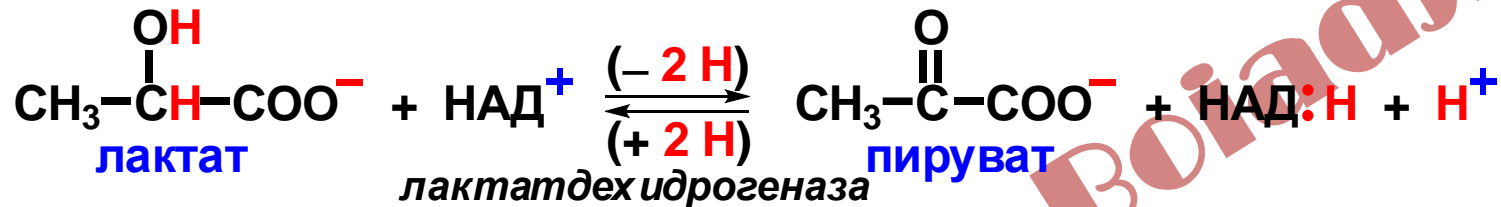
Един стадий от β -окисление на мастна киселина е:



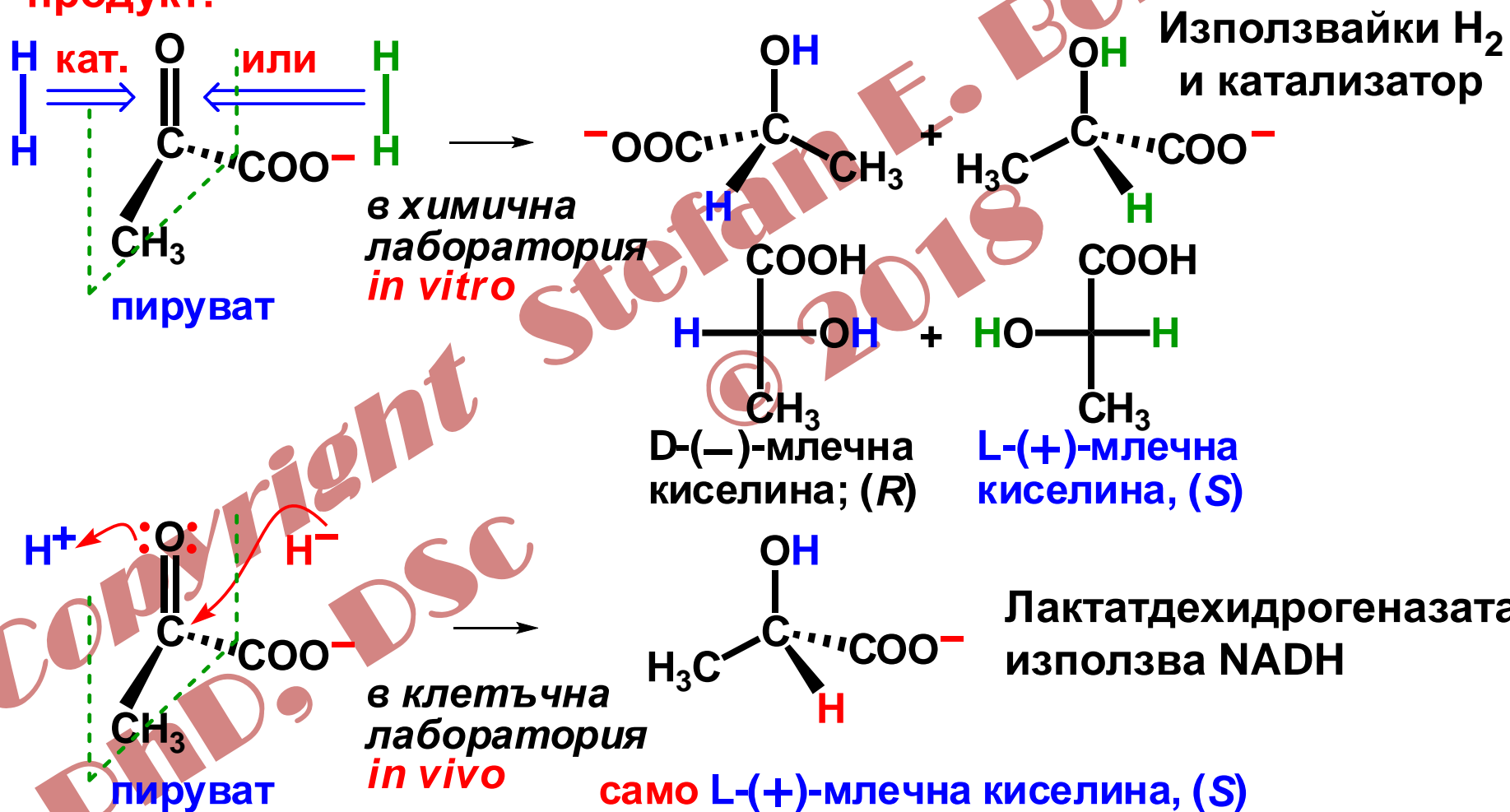
Важното в окисление/редукция с НАД⁺/НАДН е, че един **H** атом се обменя с електронна двойка, а другият – като **H⁺**.



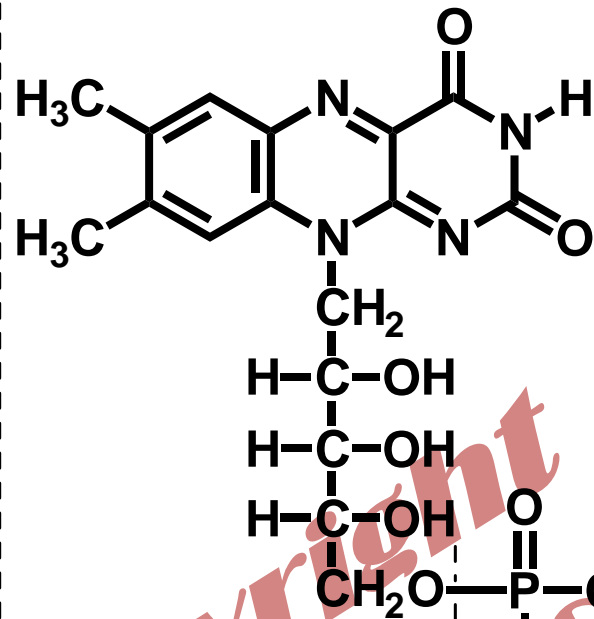
Лактат се окислява до пируват и пируват се редуцира до лактат.
 (Основен пример за обратима окислително-редукционна реакция
 в клетките.)



Фундаменталната разлика между една химична реакция (напр. редукция на пируват, без други хирални агенти: катализатор, разтворител, добавки) и същата/подобна, ензимно катализирана биохимична реакция е **повечето биохимични реакции са напълно енантоспецифични и енантоселективни; един субстрат – един продукт!**

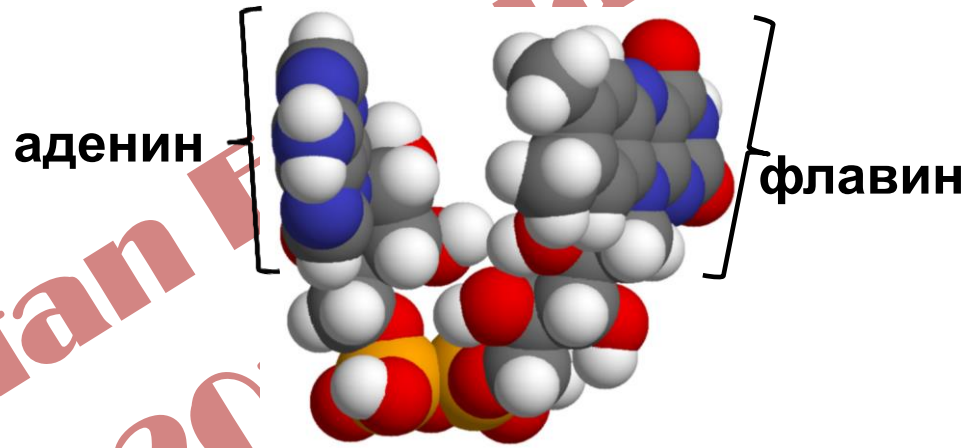


Флавин-аденин-динуклеотид, ФАД (англ. FAD), е кофактор в каталитични окислително-редукционни реакции. Състои се от изалоксазин (флавин) свързан към рибитол до рибофлавин (витамин В₂). Той е съединен чрез фосфоанхидридна връзка с аденин мононуклеотид.



рибофлавин
витамин В₂

флавин мононуклеотид

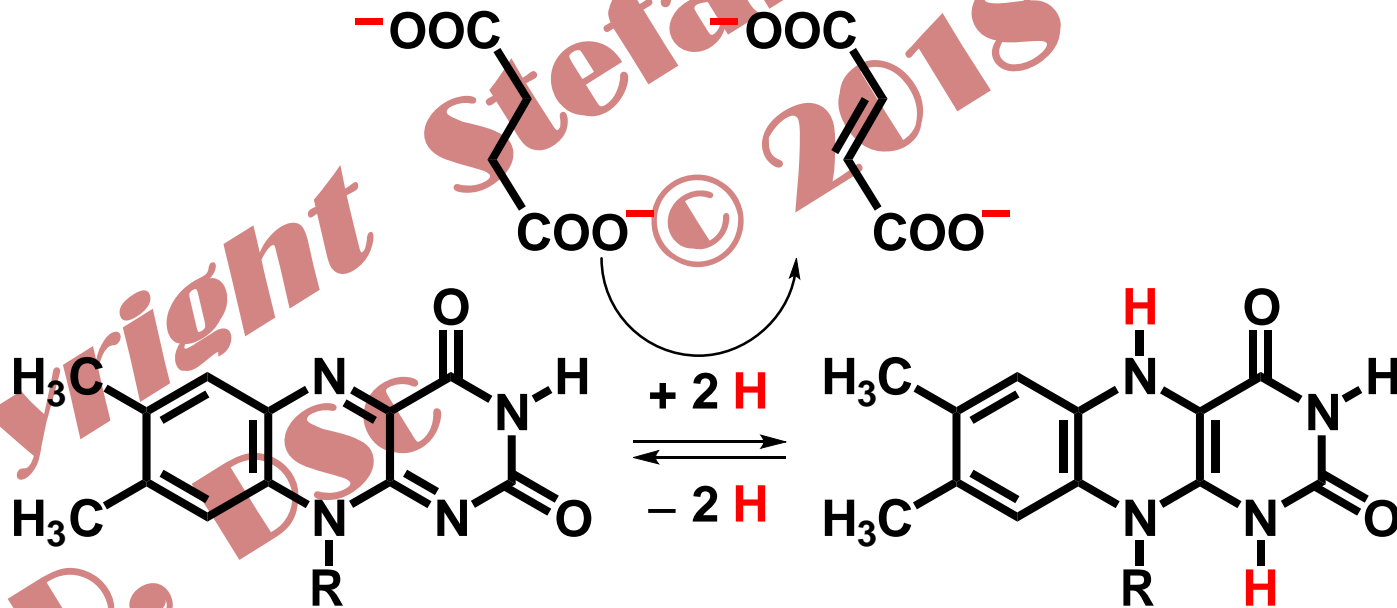


аденин

флавин

флавин аденин динуклеотид

Зависещите от ФАД протеини функционират в разнообразни метаболитни пътища, включително електронен транспорт, биосинтез на нуклеотиди, ДНК поправка, бета-окисление на мастни киселини и др. Флавиновият фрагмент участва в преноса на електрони, напр. в добре познатия етап от цикъла на Кребс, дехидрогенирането на сукцинат до фумарат, което изисква по-висок редукционен потенциал (по-силен окислител от НАД^+ за окислението на $\text{CH}-\text{CH}$ до $\text{C}=\text{C}$).



***Copyright* Stefan E. Boiadjev, PhD**
© 2018