

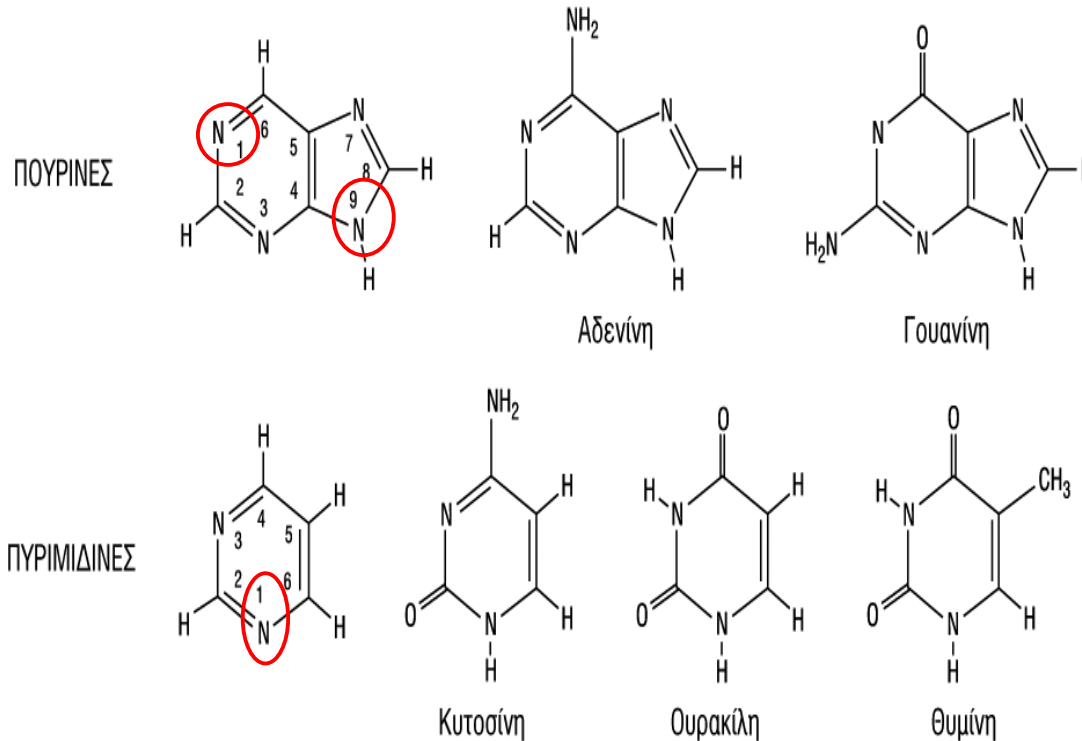
Δομή και χημεία Νουκλεοτιδίων και Νουκλεϊκών οξέων DNA/RNA

Χρήστος Κρούπης, MSc, PhD

*Καθηγητής Κλινικής Βιοχημείας
Ιατρική Σχολή Πανεπιστημίου Αθηνών
Αττικόν Πανεπιστημιακό Νοσοκομείο*

*Lehninger Κεφ. 8 Νουκλεοτίδια και Νουκλεϊκά οξέα
[εκτός χημικής σύνθεσης DNA, PCR, καθορισμού αλληλουχίας DNA (Sequencing) στο 8.3]*

Βάσεις Νουκλεϊκών Οξέων



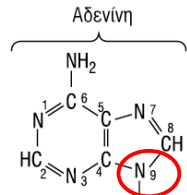
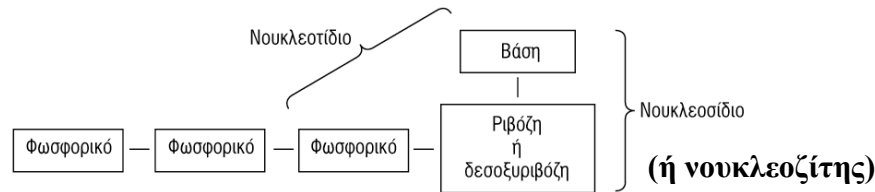
Στον
Πυρήνα
(nucleus)

Δομή βάσεων του DNA και του RNA

Στο DNA συναντάμε τις βάσεις αδενίνη, γουανίνη, κυτοσίνη και θυμίνη. Στο RNA η ουρακίλη αντικαθιστά τη θυμίνη.

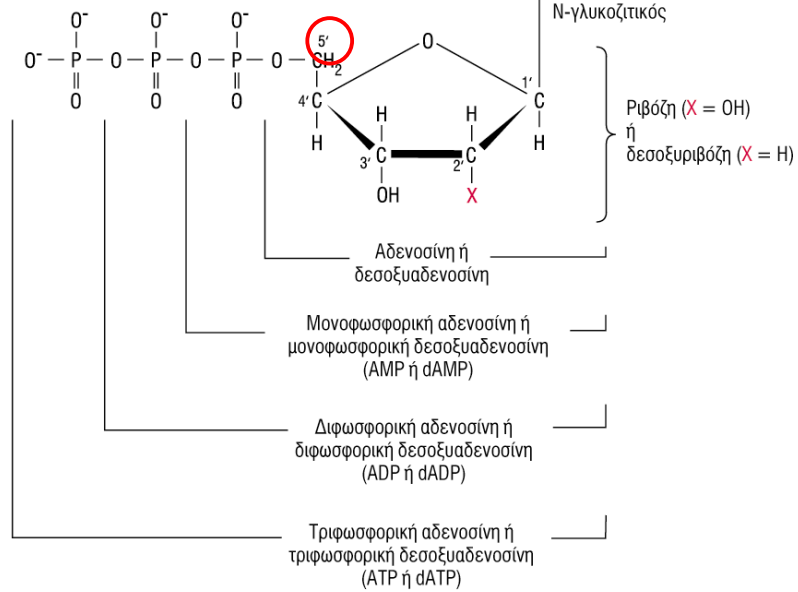
Ασθενείς αλκαλικές ενώσεις (βάσεις)
Συζευγμένα μόρια με έντονη απορρόφηση στα 260 nm (UV)

Τριφωσφορικά νουκλεοτίδια



N9 στις πουρίνες
 N1 στις πυριμιδίνες

+ β-ανωμερές C-1'

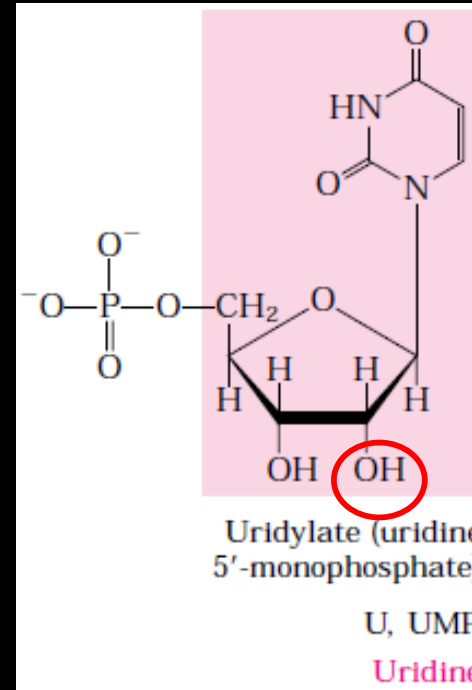
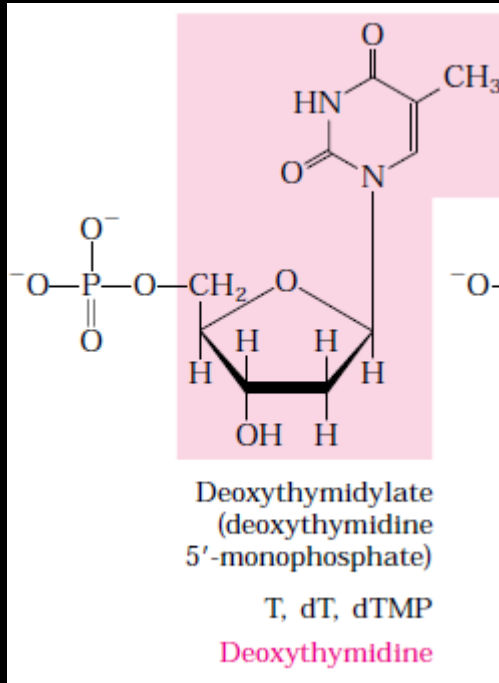


C-1', 2', 3', 4', 5'
 στη β-ριβοφουρανόζη

Συνολική απεικόνιση τριφωσφορικού νουκλεοτιδίου και ονοματολογία επιμέρους μονάδων.

Επίσης: dCTP, dTTP, dGTP,, UTP

Δεοξυριβονουκλεοτίδια/ ριβονουκλεοτίδια



N-β-γλυκοζιτικός
δεσμός

PO_4^{3-} στο C-5'

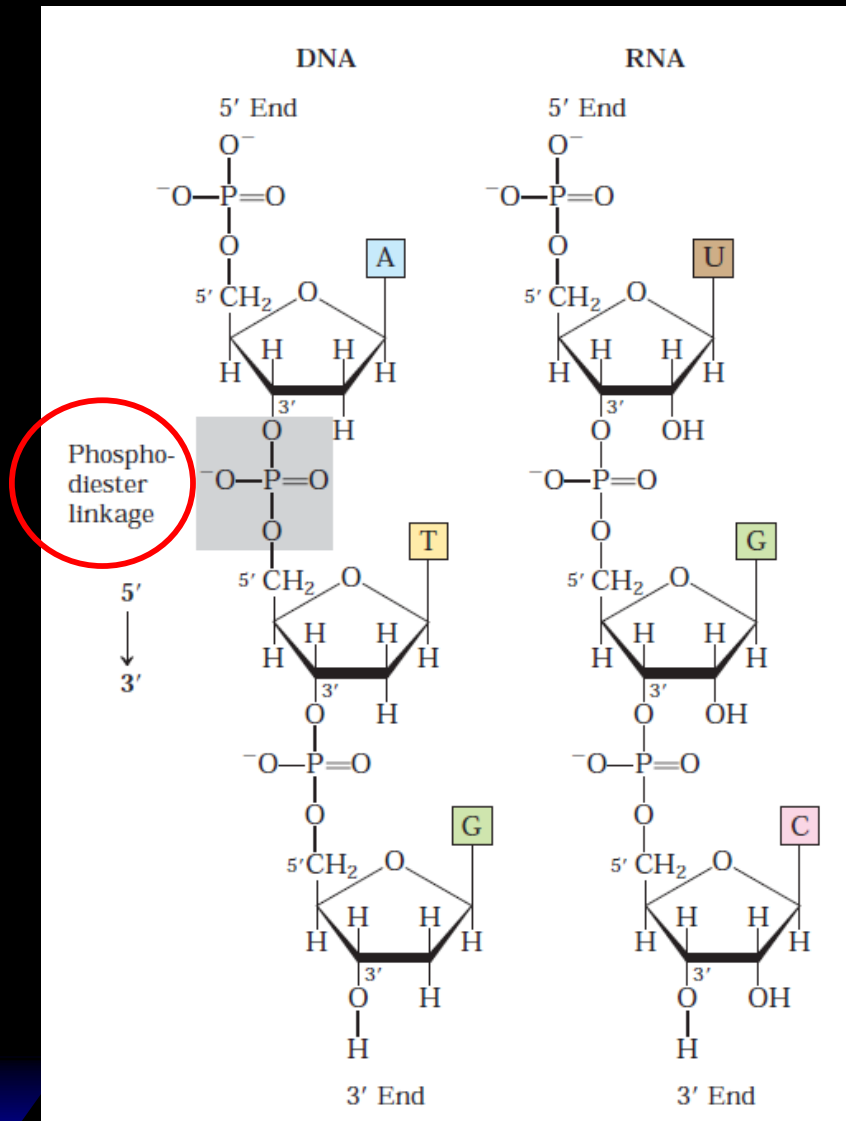
DNA

+dA, dC, dG

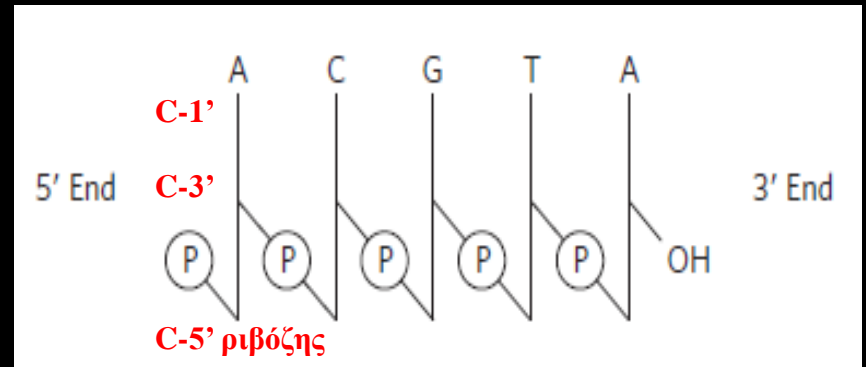
RNA

+A, C, G

Δημιουργία σκελετού Νουκλεϊκών οξέων



Συγκεκριμένη πολικότητα:
5' → 3'

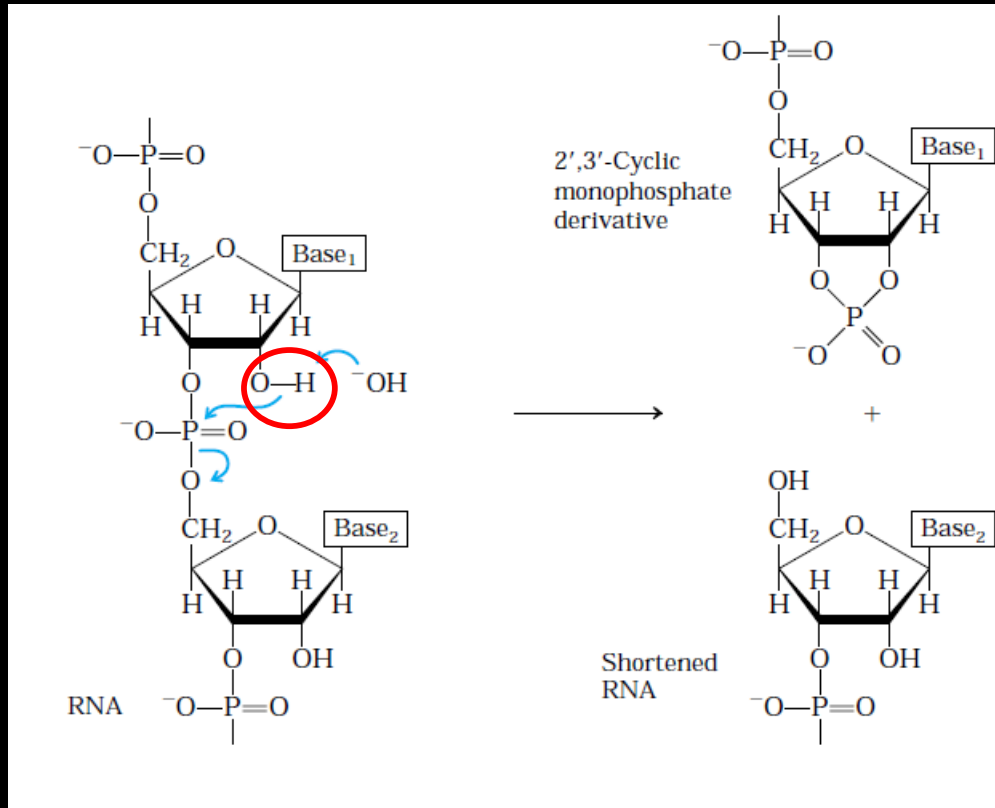


pACGTA_{OH}

Υδρόφιλος φωσφορικός σκελετός
αρνητικά φορτισμένος

Ιοντικές αλληλεπιδράσεις με
θετικά φορτία σε πρωτεΐνες
(ιστόνες), μεταλλικά ιόντα (Mg⁺²)

Το RNA είναι ευαίσθητο!

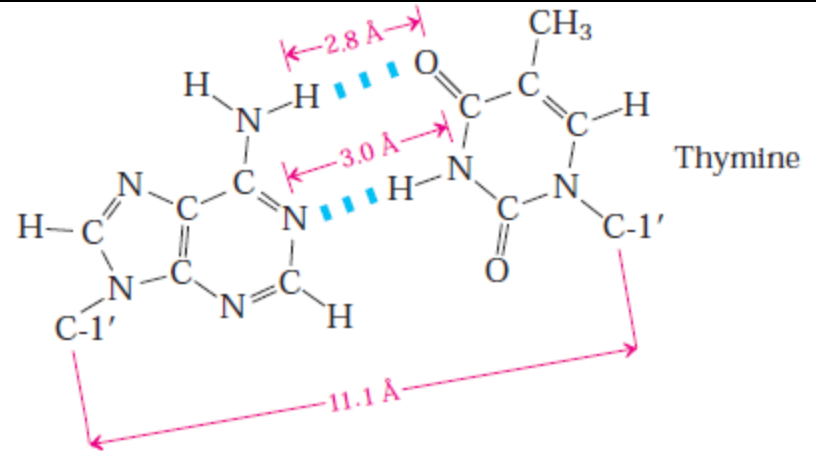
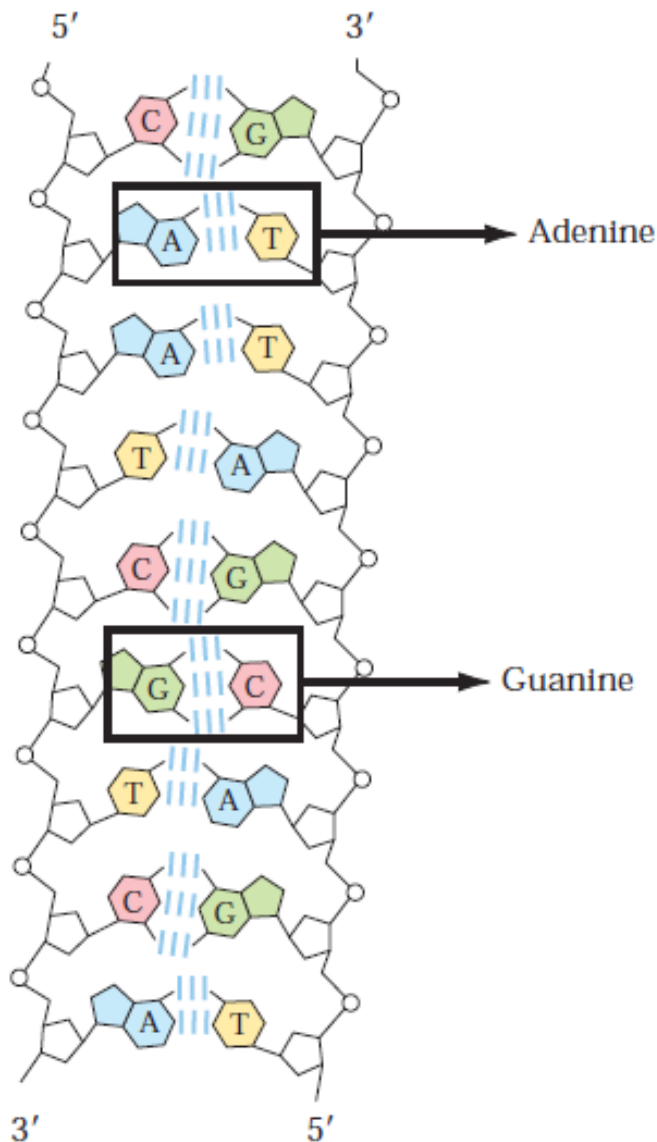


H_2O
→

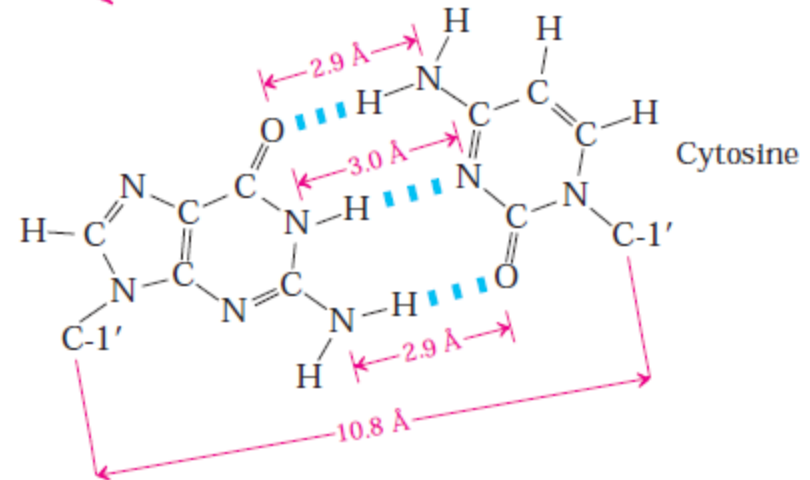
Μίγμα 2' και 3'
μονοφωσφορικών
παραγώγων

Ταχεία υδρόλυση του RNA σε αλκαλικές συνθήκες
Επιλογή DNA ως αξιόπιστου φορέα γενετικών πληροφοριών

Μοντέλο διπλής έλικας DNA



2
δεσμοί
H



3
δεσμοί
H

- Δεσμοί υδρογόνου (μεταξύ αμινομάδων και καρβονυλίων)
- Υδρόφοβο στοίβαγμα βάσεων (stacking)



Σταθμοί στην ανακάλυψη του DNA



- ❖ 1868, Miescher, απομόνωση nuclein από πυρήνα λευκοκυττάρων
- ❖ 1944, Avery et al., DNA φορέας γενετικών πληροφοριών, μετασχηματισμός μη-παθογόνου στελέχους *Streptococcus* σε παθογόνο
- ❖ 1948, Chargaff κανόνες: $A=T$ και $G=C$ ($A+G=T+C$), σύσταση του DNA ποικίλει από είδος σε είδος αλλά δε μεταβάλλεται με την ηλικία, διατροφή κλπ
- ❖ 1950, R. Franklin-M. Wilkins, με X-κρυσταλλογραφία δομή έλικας
- ❖ 1953, J. Watson-F. Crick, δομή διπλής δεξιόστροφης έλικας με συμπληρωματικότητα και αντιπαράλληλο προσανατολισμό

Ιδιότητες Διπλής Έλικας

2 αύλακες:

Μεγάλη (major)

Μικρή (minor)

10 ή 10,5

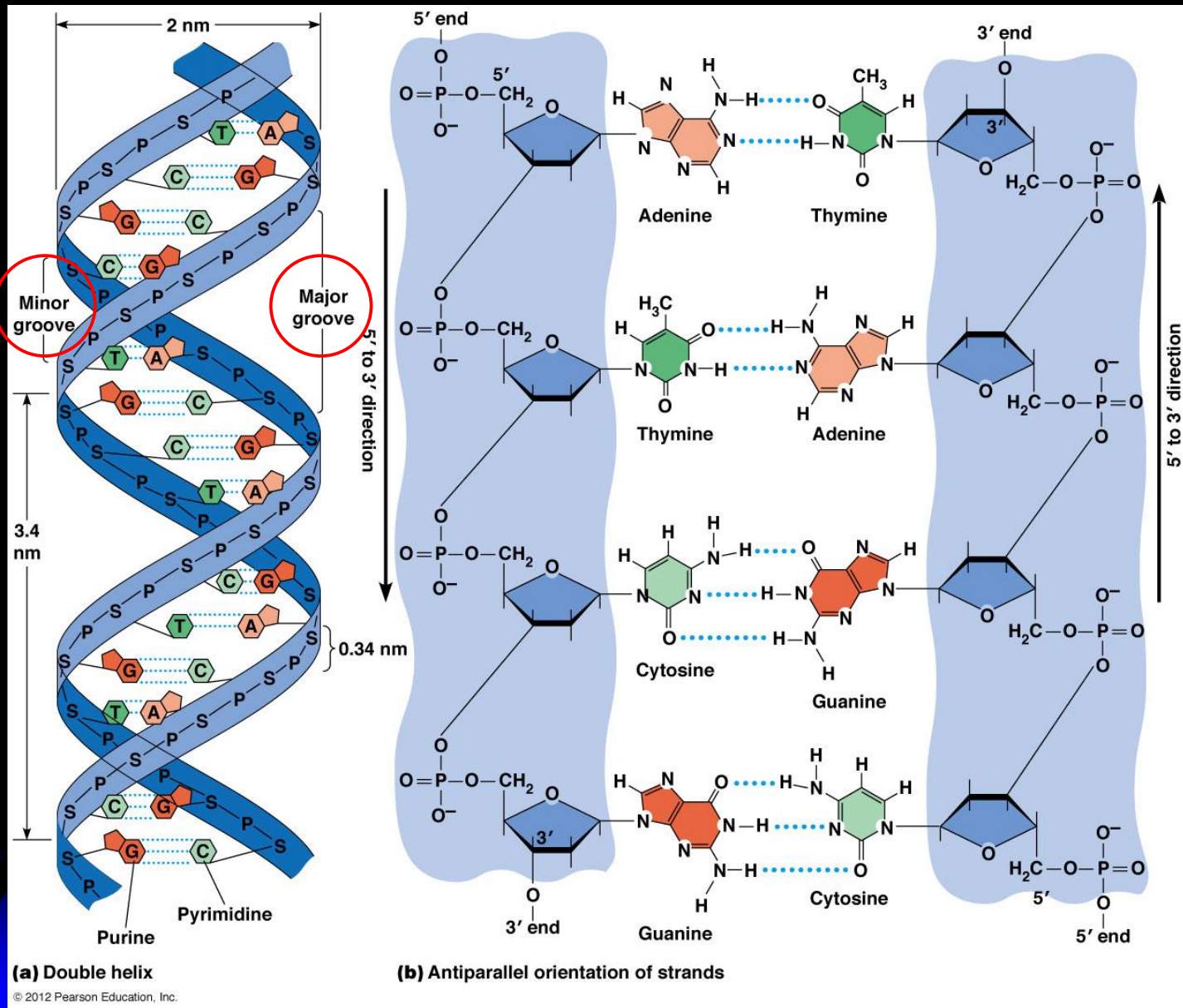
(υδατικό δlm)

ζεύγη ανά πλήρη

στροφή →

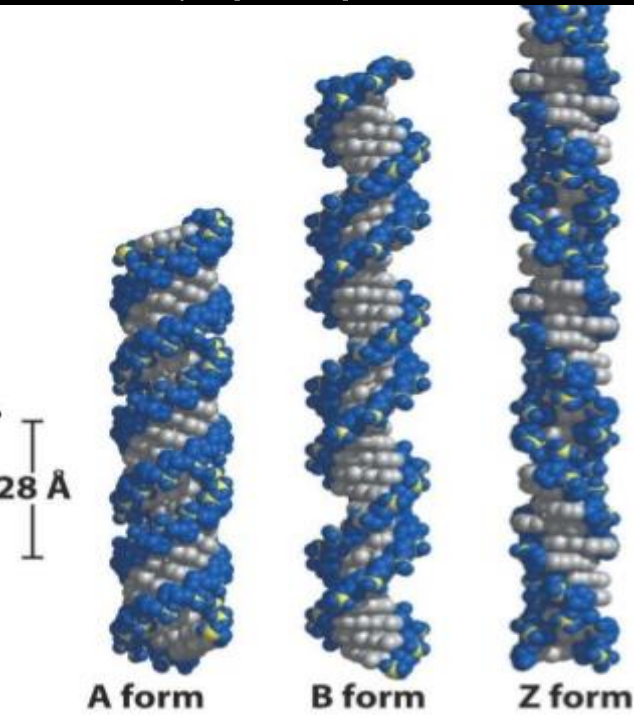
34 ή 36 Å

(3,4 ή 3,6 nm)



A, B και Z Μορφή DNA

Δομή 36 βάσεων

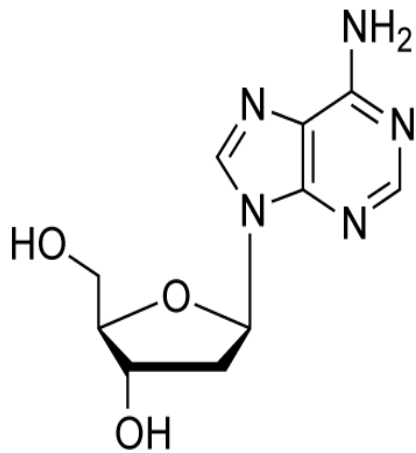


	A form	B form	Z form
Helical sense	Right handed	Right handed	Left handed
Diameter	~26 Å	~20 Å	~18 Å
Base pairs per helical turn	11	10.5	12
Helix rise per base pair	2.6 Å	3.4 Å	3.7 Å
Base tilt normal to the helix axis	20°	6°	7°
Sugar pucker conformation	C-3' endo	C-2' endo	C-2' endo for pyrimidines; C-3' endo for purines
Glycosyl bond conformation	Anti	Anti	Anti for pyrimidines; syn for purines

A δεξιόστροφο, σε αφυδατωμένα δλμ, σε μικρά μόρια DNA, πιο πλατιά έλικα με κλίση 20°

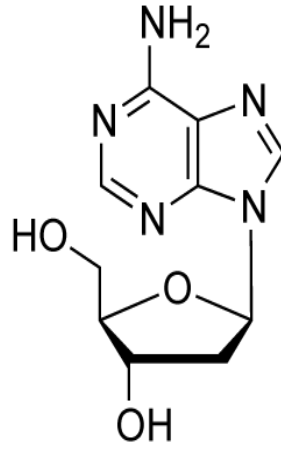
Z αριστερόστροφο, πιο λεπτή και επιμήκης μορφή, 12 ζεύγη ανά πλήρη στροφή, σε CG μεθυλιώσεις

Διαμορφώσεις βάσεων

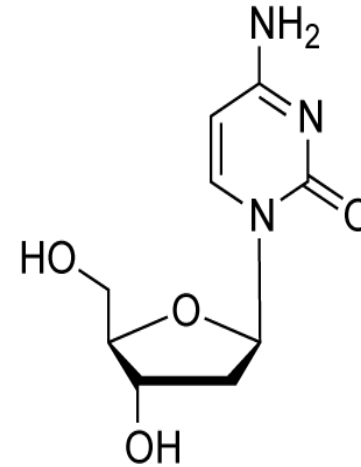


anti

deoxyadenosine (a purine nucleoside)

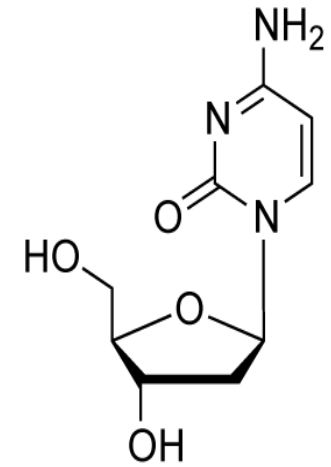


syn



anti

deoxycytidine (a pyrimidine nucleoside)

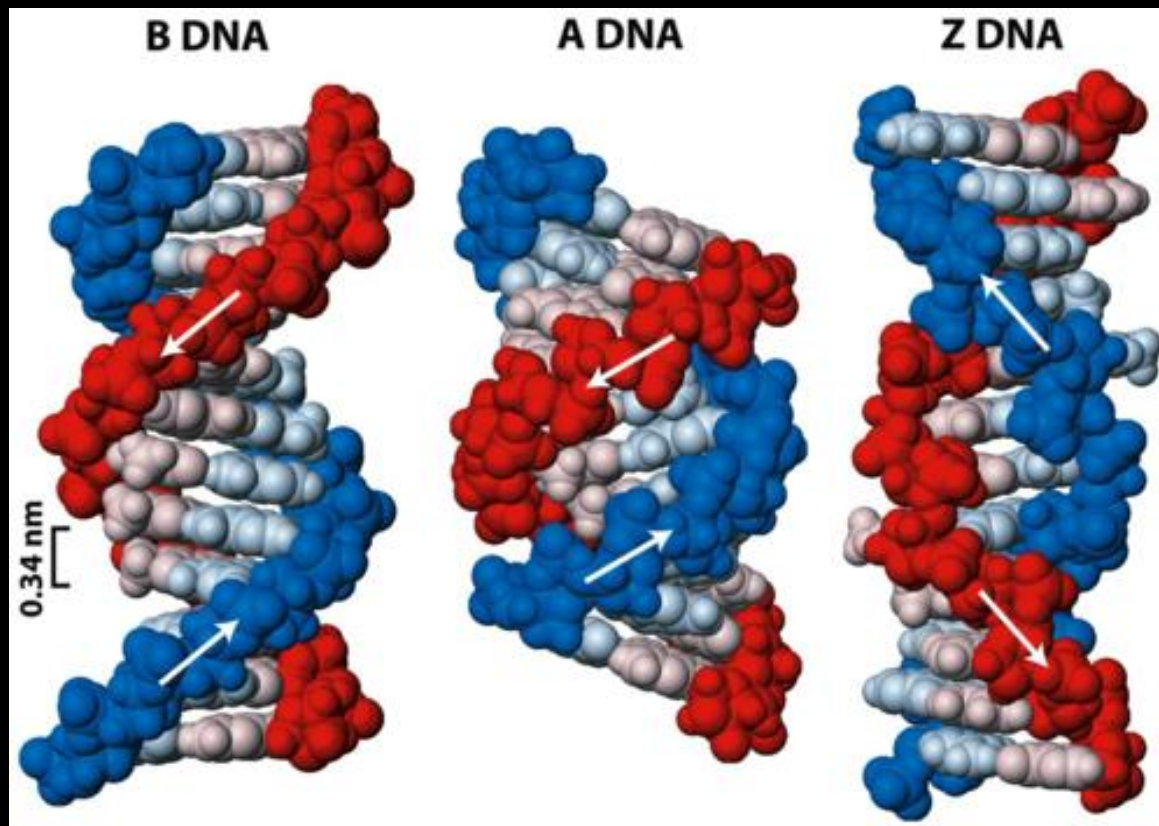


syn

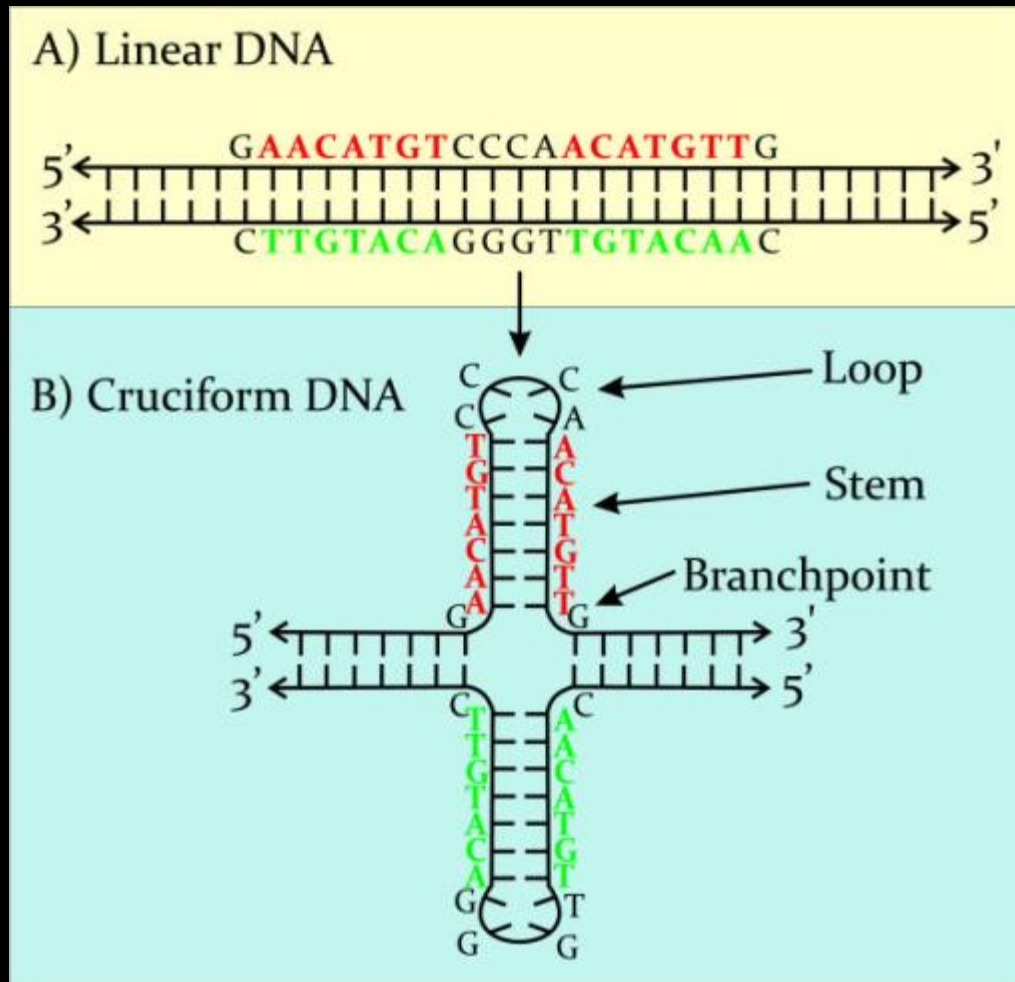
Trans

Cis

Περιστροφή A, B και Z DNA

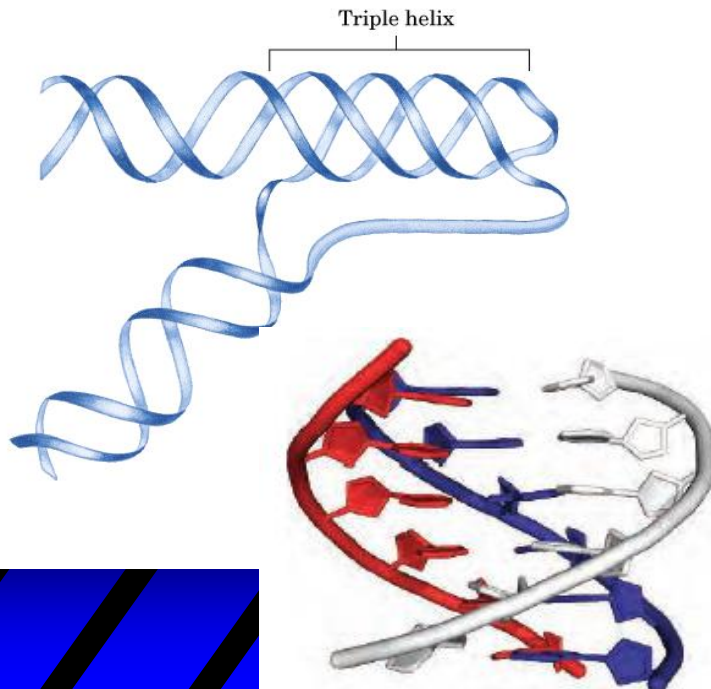
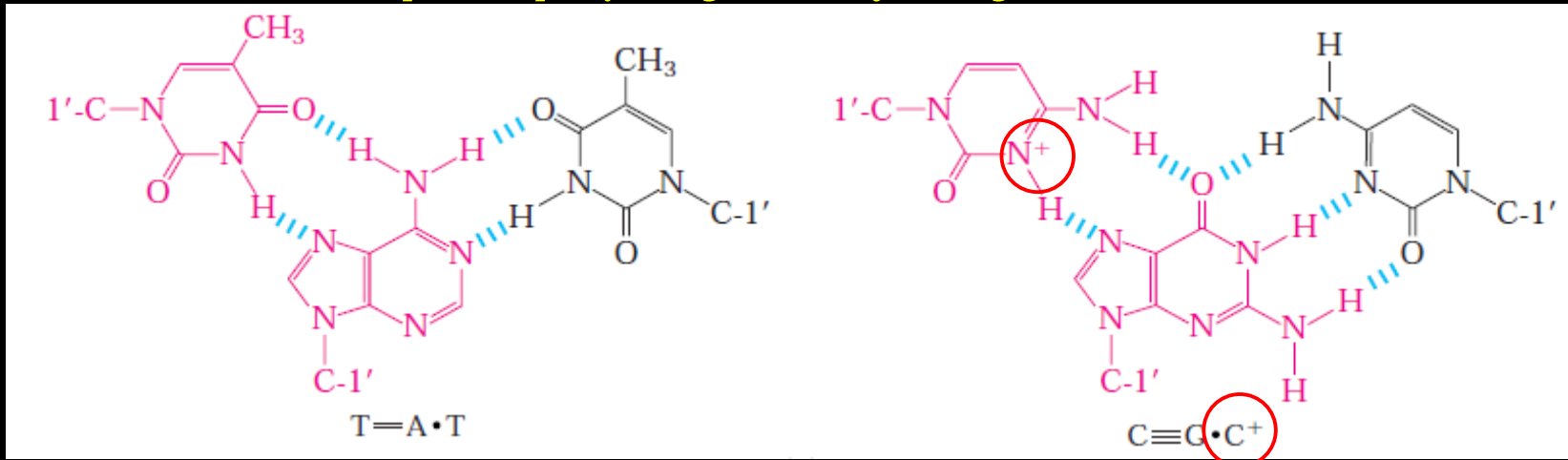


Παλίνδρομες αλληλουχίες DNA



Φουρκέτες (hairpins σε ssDNA)
και σταυροειδείς δομές (cruciform σε dsDNA)

Περίεργες δομές DNA

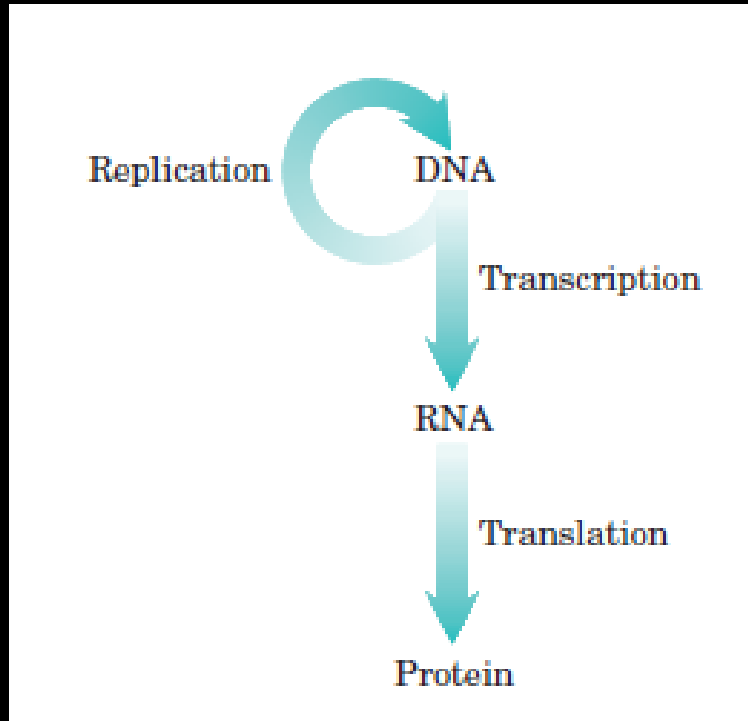


Τρίκλινα μόρια DNA
Ζεύγη κατά **H**oogsteen (1963)

H DNA σε περιοχές
εναλλασσόμενων T και C
Πιθανή ρύθμιση έκφρασης
γονιδίων

Κεντρικό Δόγμα Μοριακής Βιολογίας

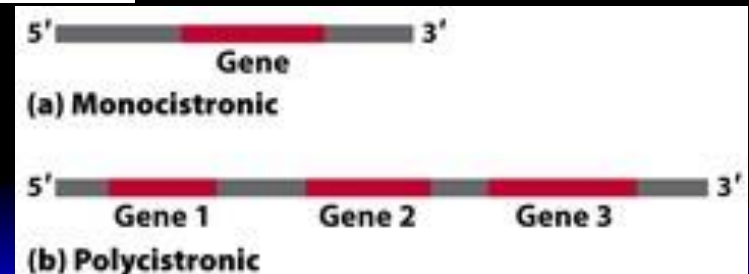
Αντιγραφή



Μεταγραφή σε **mRNA**
δεξιόστροφη έλικα

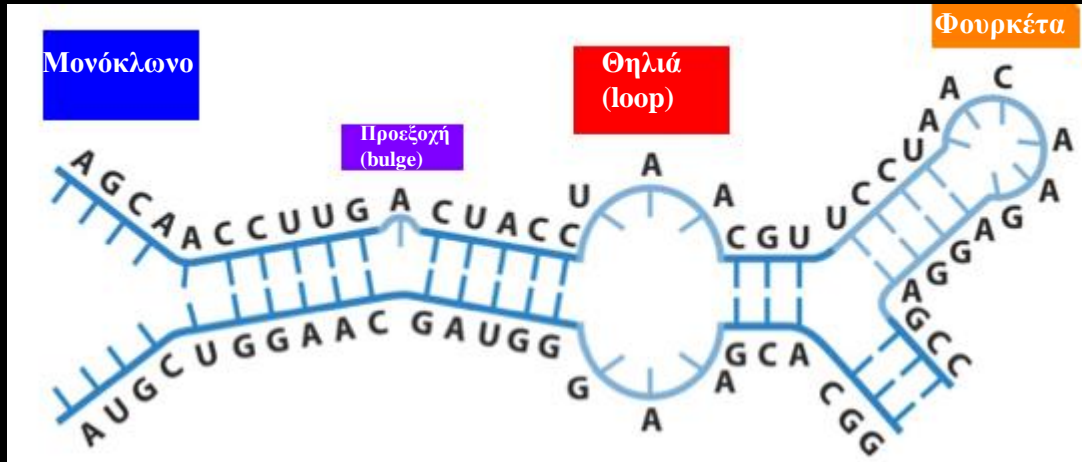
Μετάφραση με τη βοήθεια
rRNA και **tRNA**

Λειτουργική Μονάδα: γονίδιο

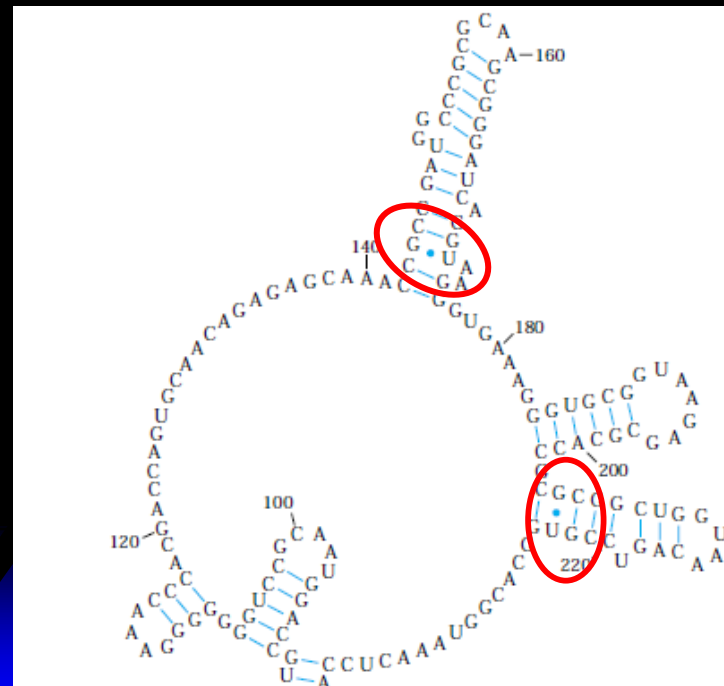
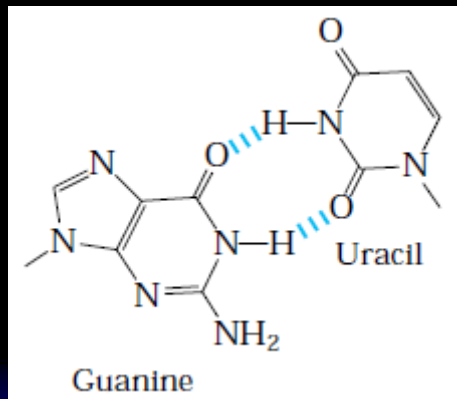


Στους ευκαρυώτες τα περισσότερα mRNA είναι μονοκιστρονικά

Δευτεροταγείς Δομές RNA

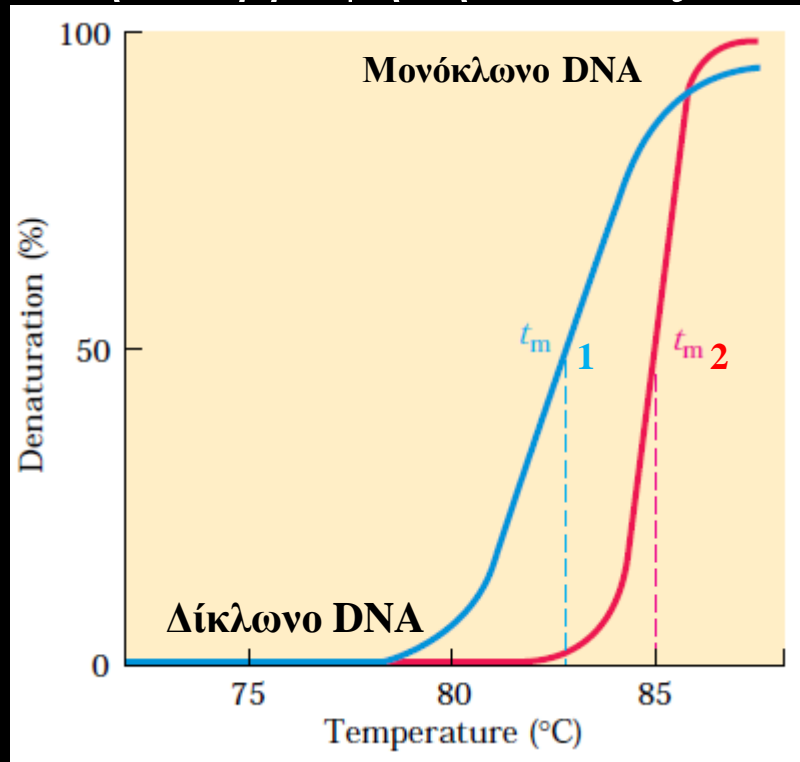


Δεξιόστροφη διπλή έλικα
A-διαμόρφωσης



T_m: melting temperature

Όταν θερμαίνεται το DNA, αποδιατάσσεται από δίκλωνο σε μονόκλωνο και η απορρόφηση του αυξάνεται (υπερχρωμία)

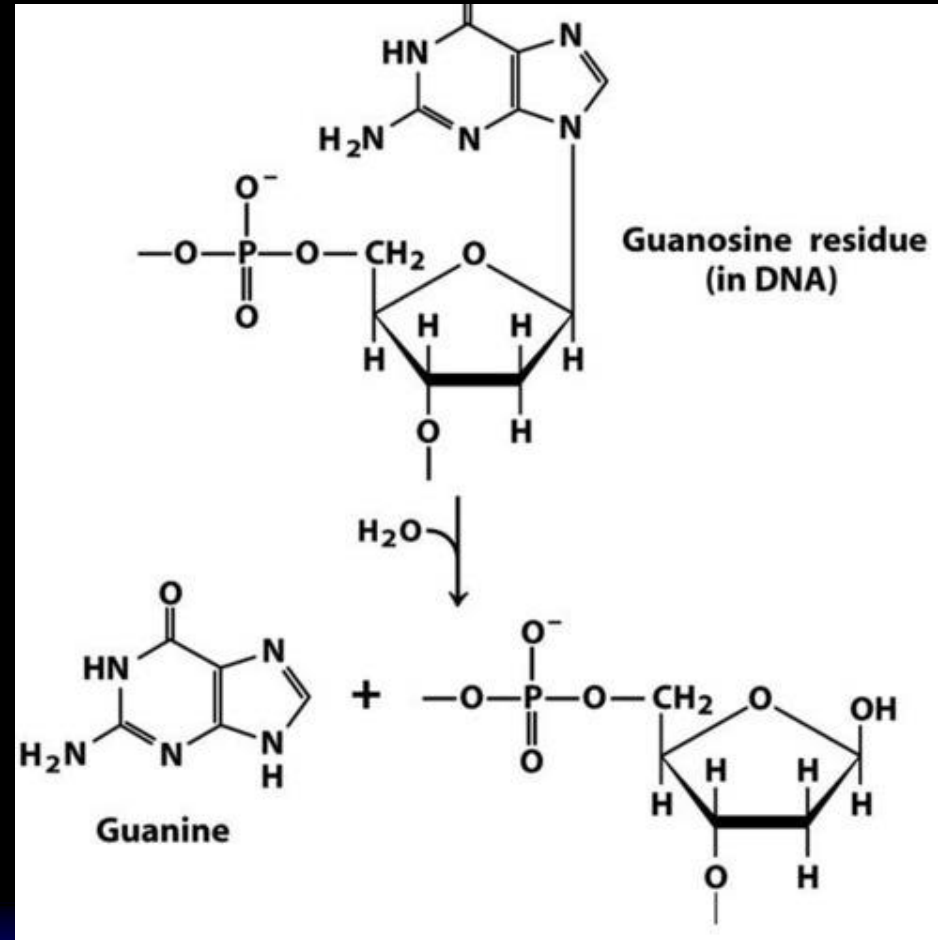
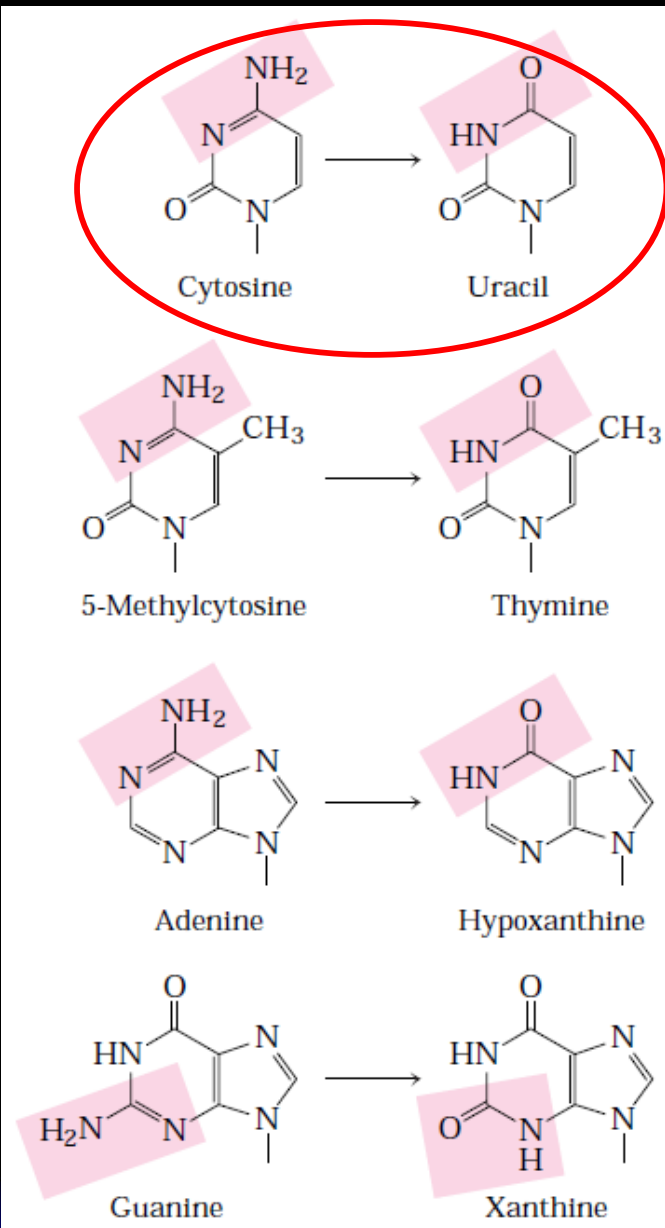


T_m: 50% μονόκλωνο DNA

DNA₂ πιο μεγάλο σε αριθμό βάσεων ή πιο περιεκτικό σε GC από **DNA₁**

DNA Damage

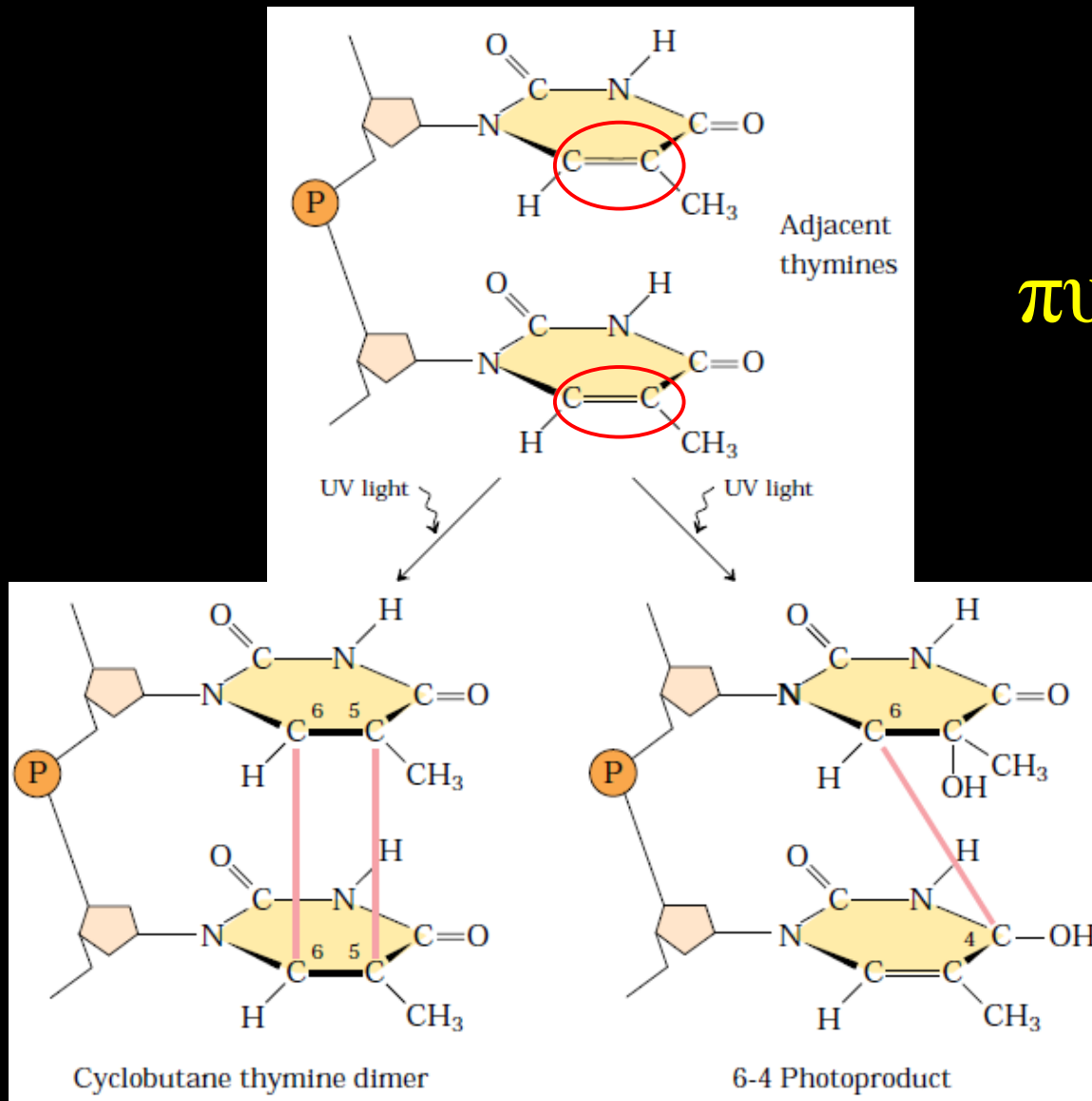
Απαμίνωση - Αποπυρίνωση



Απώλεια εξωκυκλικών αμινομάδων
 $1:10^7 / 24 \text{ hr}$ (Κυτοσίνη)

Υδρόλυση N-β-γλυκοζιτικού δεσμού
 $1:10^5 / 24 \text{ hr}$ (πυρίνες)

Διμερή πυριμιδίνης από UV



Άλλες DNA βλάβες από ιοντίζουσα ακτινοβολία και αλκυλιωτικούς παράγοντες

Επιδιόρθωση βλαβών του DNA (DNA repair)

DNA Βλάβες προκύπτουν είτε αυθόρμητα (απαμίνωση, υδρόλυση γλυκοζιτικού δεσμού) είτε μετά από επίδραση ακτινοβολιών όπως UV (διμερή πυριμιδίνης) ή ακτίνες X και γ είτε μετά από επίδραση χημικών (π.χ. νιτρώδους οξέος που προκαλεί απαμίνωση και αλκυλιωτικών παραγόντων) ή οξειδωτικών ελεύθερων ριζών [H_2O_2 , $OH\cdot$, O_2^- (σούπερ-οξείδιο)]

DNA Επιδιόρθωση με:

- 1) Επιδιόρθωση αταίριαστων (mismatched) ζευγών (MMR)
- 2) Επιδιόρθωση με εκτομή βάσεων (BER)
- 3) Επιδιόρθωση με εκτομή νουκλεοτιδίων (NER)
- 4) Άμεση επιδιόρθωση με φωτολύασες
- 5) Ομόλογος ανασυνδυασμός (HR)

Μεθυλίωση κυτοσινών ($5' mC$ ή $5' hmC$) με DNA μεθυλάσες σε CpG islands ή σε άλλες περιοχές στο γονιδίωμα για καταστολή μετανάστευσης τρανσποζονίων → Z διαμόρφωση DNA

Μεταλλάξεις στα γονίδια επιδιόρθωσης και μεθυλίωση στα CpG islands υποκινητών ογκοκατασταλτικών γονιδίων → **καρκίνος**