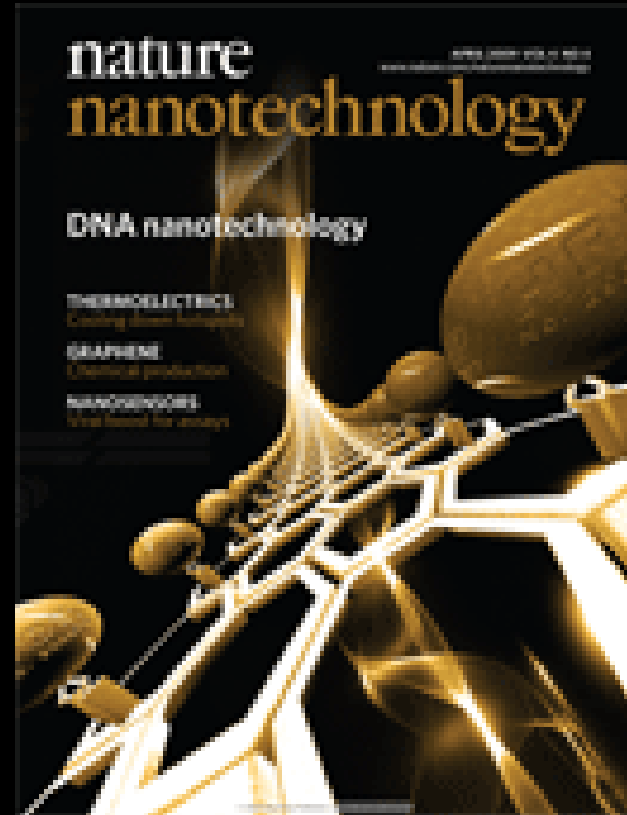


Наноматериалы на основе биополимеров – на основе нуклеиновых кислот (ДНК, РНК).

Доцент
кафедры ХПС
Хим. Фак-та

Зверева М.Э.

zvereva@genebee.msu.ru



Позволяют использовать ДНК в качестве
конструкционного, функционализированного
материала для различных целей.

План лекций:

- 1. Введение

- 1.1. Что такое нуклеиновые кислоты? Способность к самосборке ДНК. Что это дает?

- 1.2. Методы получения НК и определения структуры.

- 1.3. Методы манипуляции с НК.

- 2. Самосборка нуклеиновых кислот — это основа использования в нанотехнологии

- 2.1. Материалы на основе ДНК.

- 2.2. Реализация направленного движения («нанороботехника»).

- 2.3. Каталитические НК. «ДНК-электроника»

- 2.4. Вычисления на основе ДНК. «Сложные диагностикумы».

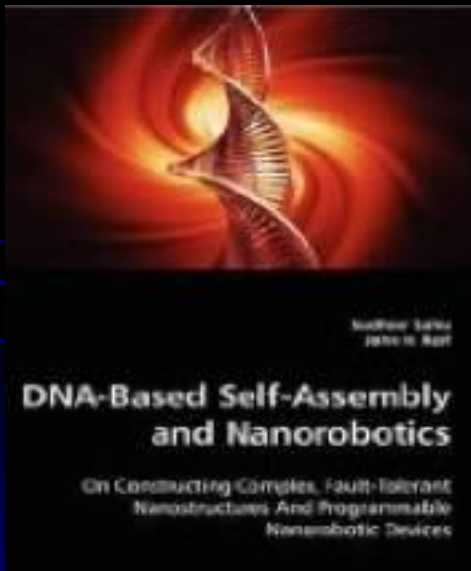
- 2.5. Дополнение.

“Эти компьютеры не будут конкурировать с вычислением на основе кремния с точки зрения скорости. Их преимущество состоит в том, что они могут использоваться в жидкостях, таких как образец крови или в теле, и принимать решения на уровне единственной клетки.”

ДНК в нанотехнологии

Использование в живых системах
- это биотехнология.

- ✓ ДНК используется в качестве конструкционного материала для различных целей, а не как носитель генетической информации



Почему?

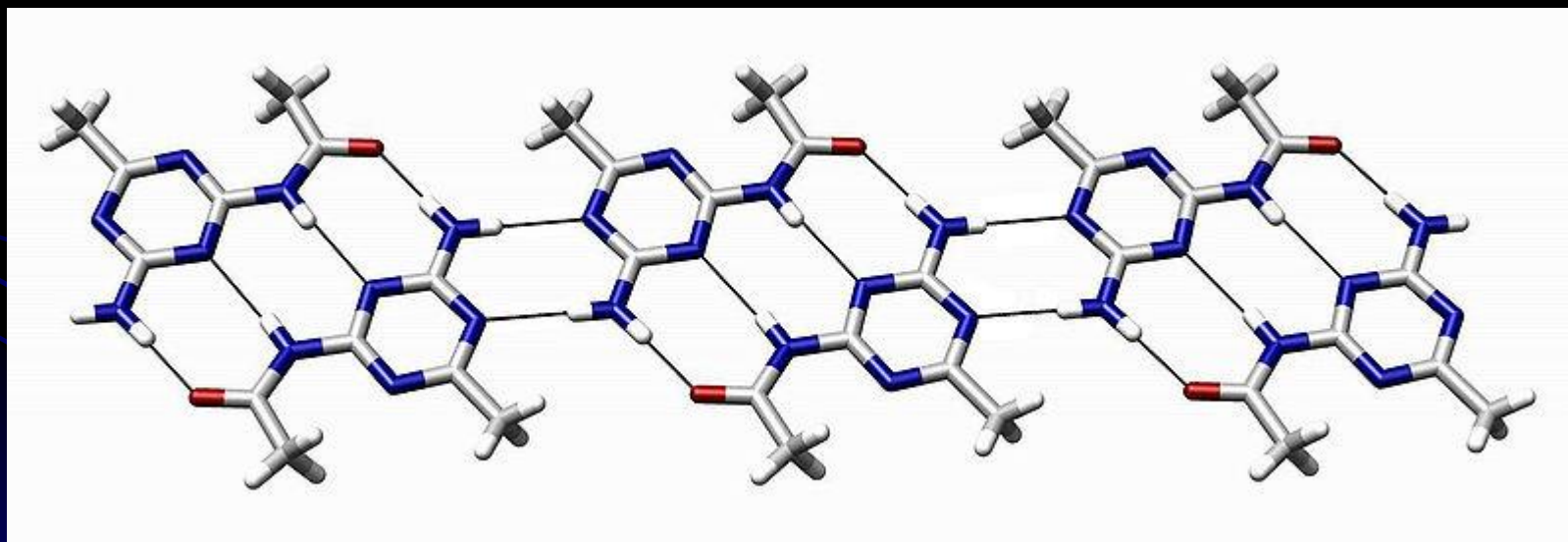
- Хорошо развит химический синтез и секвенс
- Разработан арсенал методов манипуляции при развитии биотехнологии
- Много информации о свойствах

Специальный выпуск журнала

Nature, Апрель 2009: <http://www.nature.com/nnano/focus/dna-nanotechnology/index.html>

Какое свойство используется? – Самосборка!

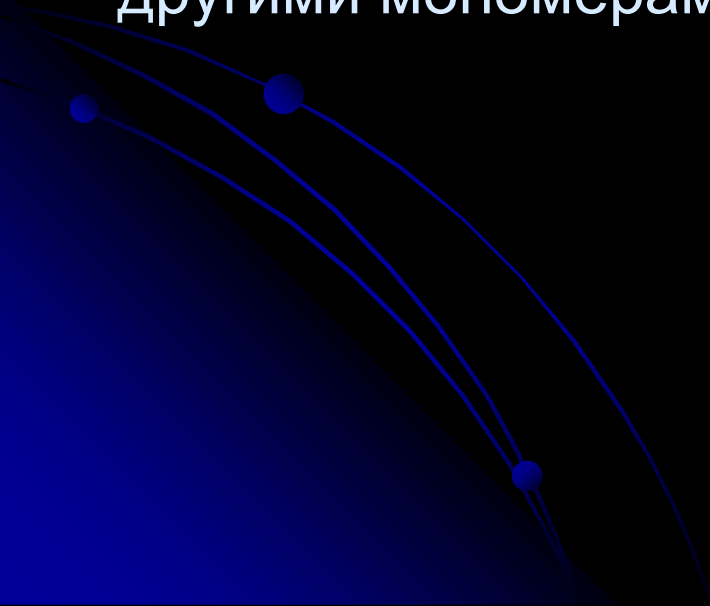
- **Молекулярная самосборка** - это процесс, при котором молекулы принимают определенную пространственную композицию без руководства или управления из внешнего источника.



F. H. Beijer, H. Kooijman, A. L. Spek, R. P. Sijbesma & E. W. Meijer
Angewandte Chemie International Edition, 1998 год, том 37, с75-78

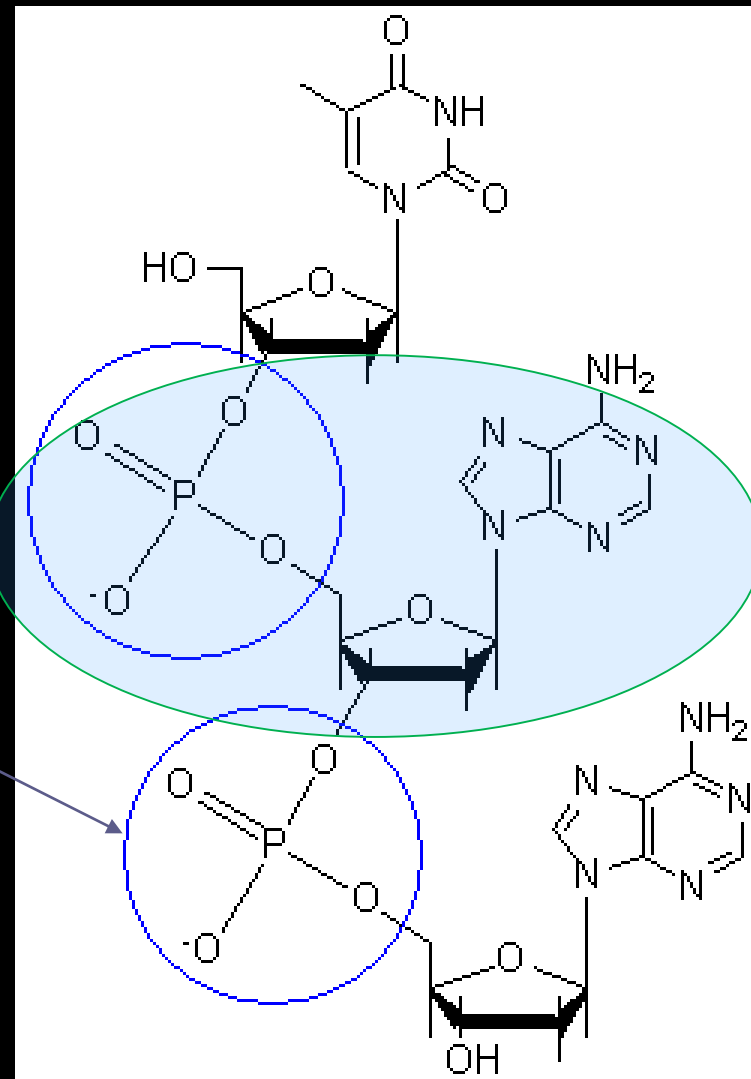
Полимер — высокомолекулярное соединение, состоит из большого числа повторяющихся одинаковых или различных по строению атомных группировок — составных звеньев, соединенных между собой химическими связями

Мономер - повторяющийся структурный фрагмент, который может образовать химическую связь с другими мономерами и составить полимер.



Мономерная
единица

Фосфодиэфирная
связь 3',5'



Расшифровка аббревиатуры ДНК

ДНК - «нуклеин» (нуклеус - ядро)

Ф. Мишер, 1869, выделение из лейкоцитов

ДНК - линейный сополимер ортофосфорной
КИСЛОТЫ

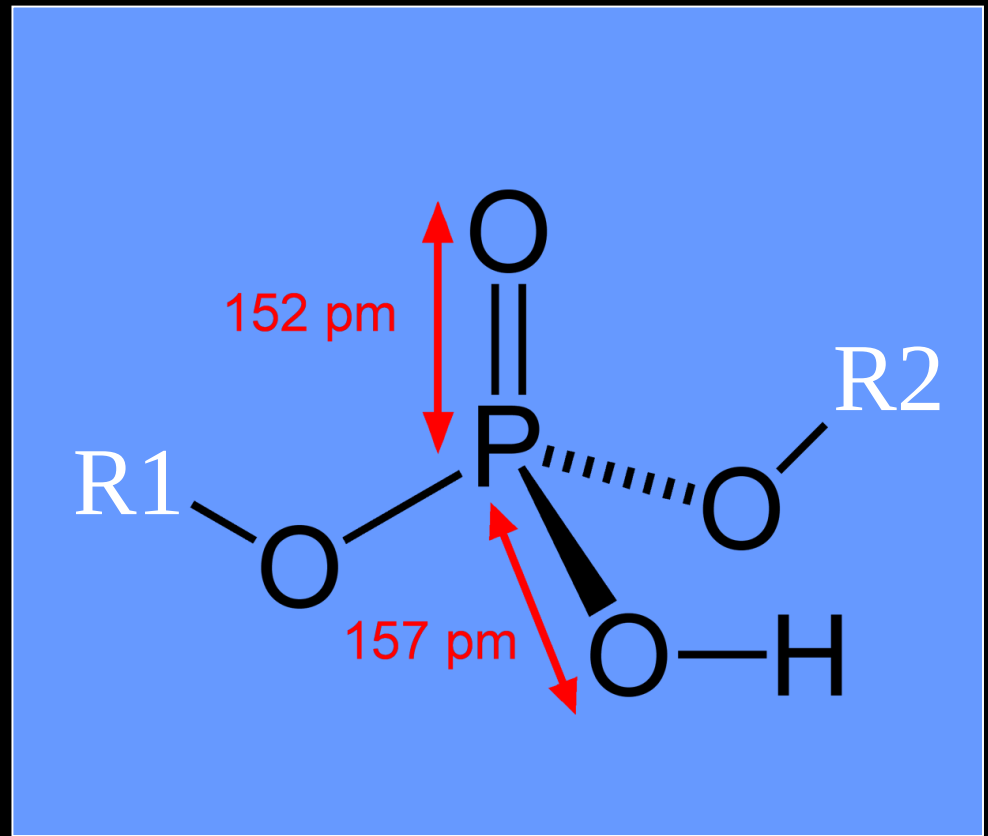
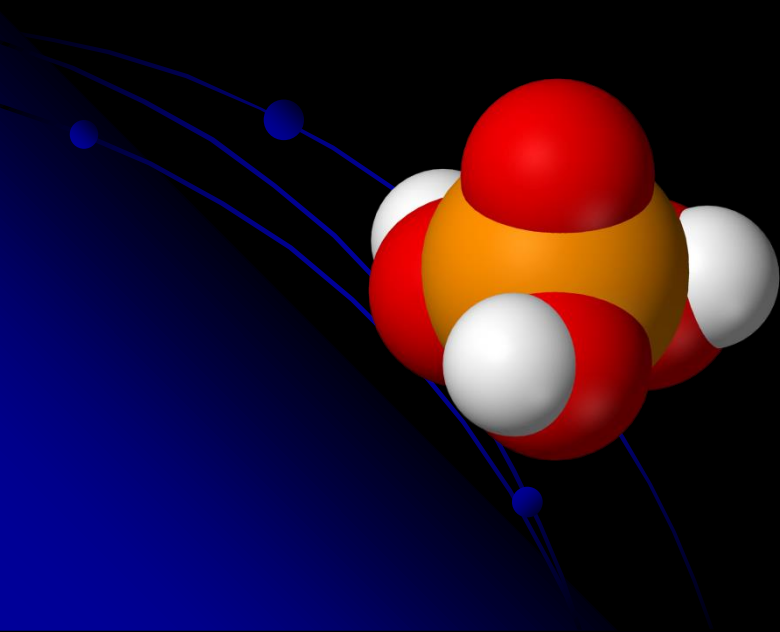
ДНК - линейный сополимер ортофосфорной
КИСЛОТЫ И

дезоксирибозы

Исходные вещества, из которых
построены мономеры ДНК

(нуклеотиды):

фосфорная кислота, углевод,
основания.

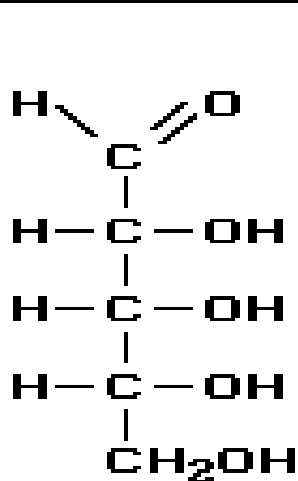


Нуклеиновые кислоты:

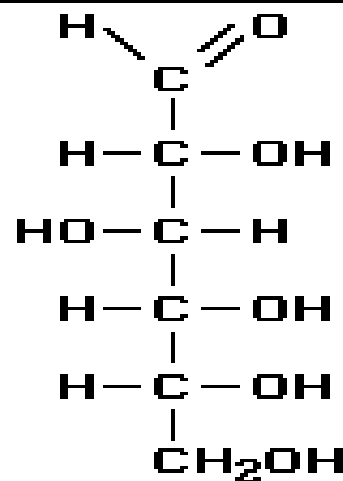
дезоксирибонуклеиновая кислота – ДНК
рибонуклеиновая кислота – РНК

Различается строением углевода: **рибоза**, **дезоксирибоза** –это моносахариды

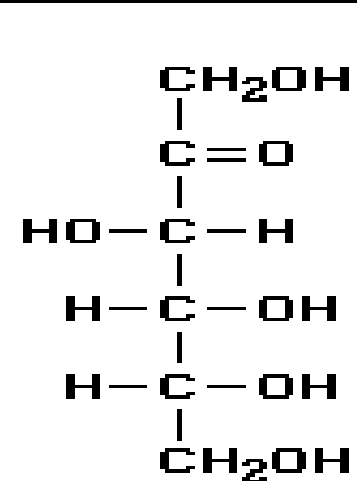
В природе наиболее распространены моносахариды, где пять углеродных атомов (пентозы) или шесть (гексозы).



Рибоза
(пентоза)

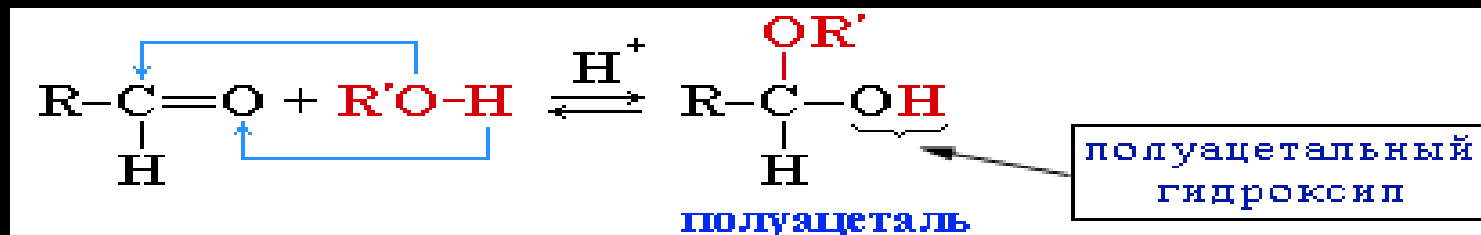


Глюкоза
(гексозы)

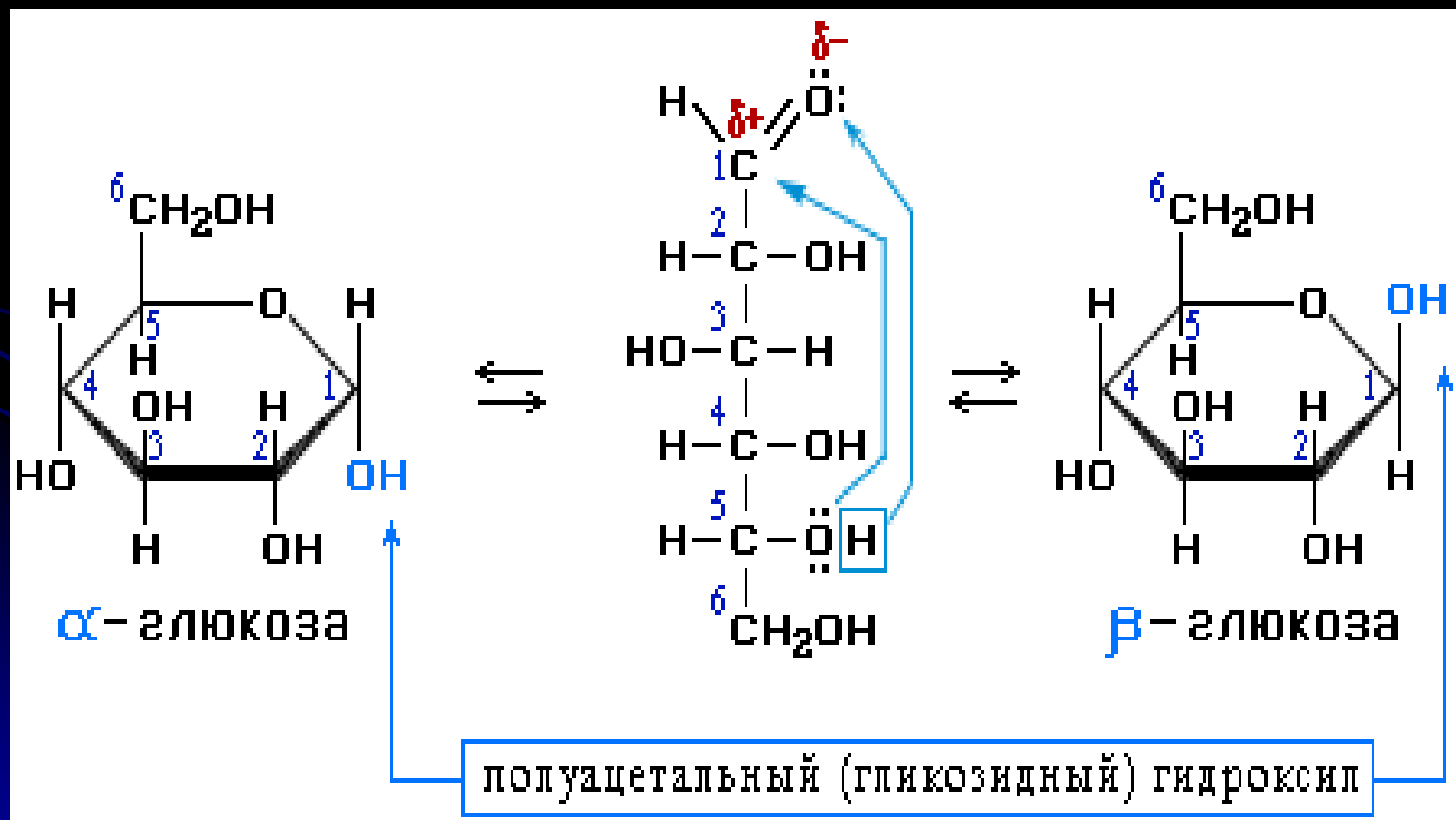


Фруктоза

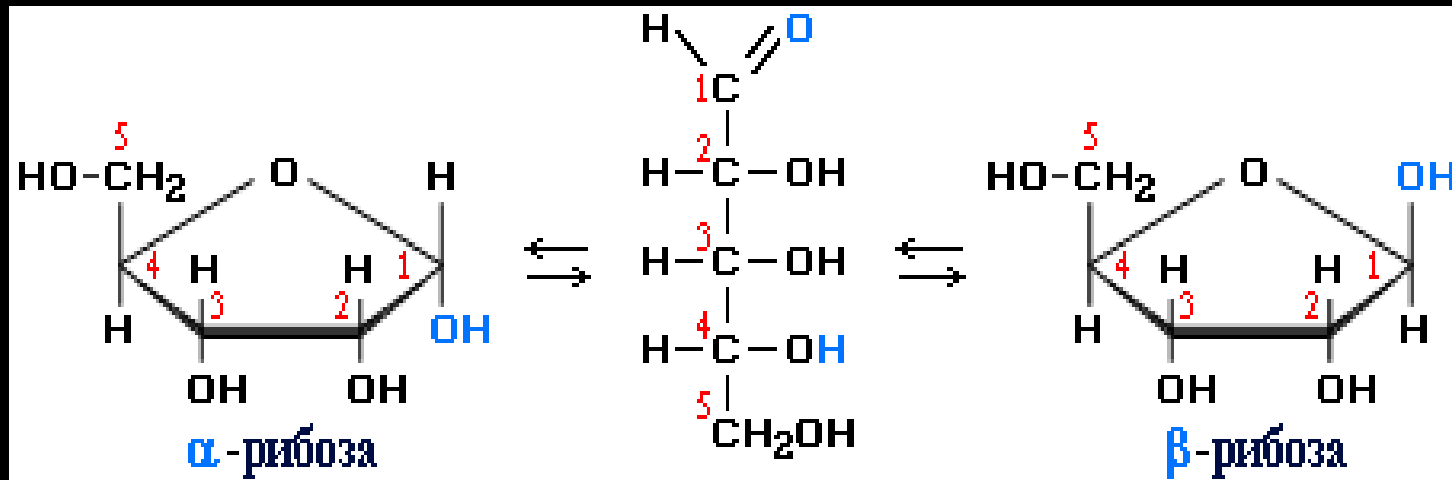
Присоединение спиртов с образованием полуацеталей
(в присутствии кислоты или основания как катализатора):



Приведет к образованию циклической формы сахара:



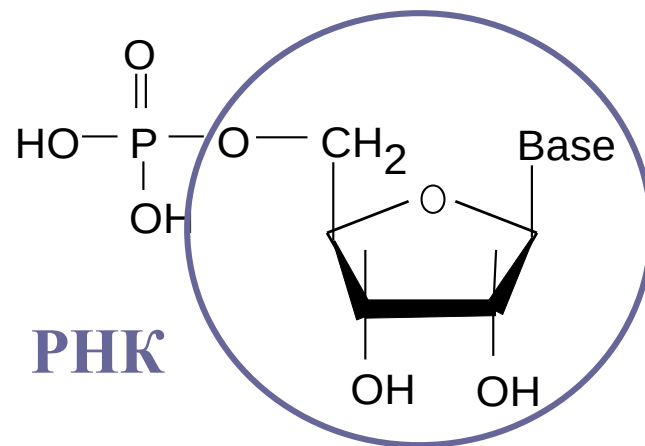
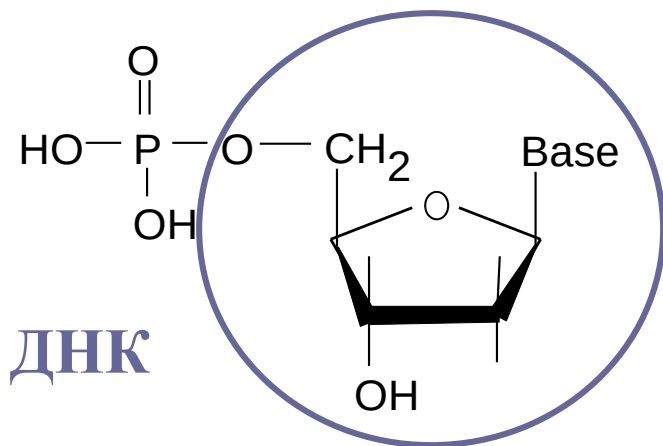
Именно циклическая форма рибозы входит в состав нуклеотидов



Нуклеиновые кислоты

НК — это полимер, состоящий из определенным образом соединенных звеньев, называемых *нуклеотидами*.

Тип НК, РНК или ДНК, определяется типом углеводного остатка в составе нуклеотидов: в РНК — *рибоза*, в ДНК — *2-дезоксирибоза*.

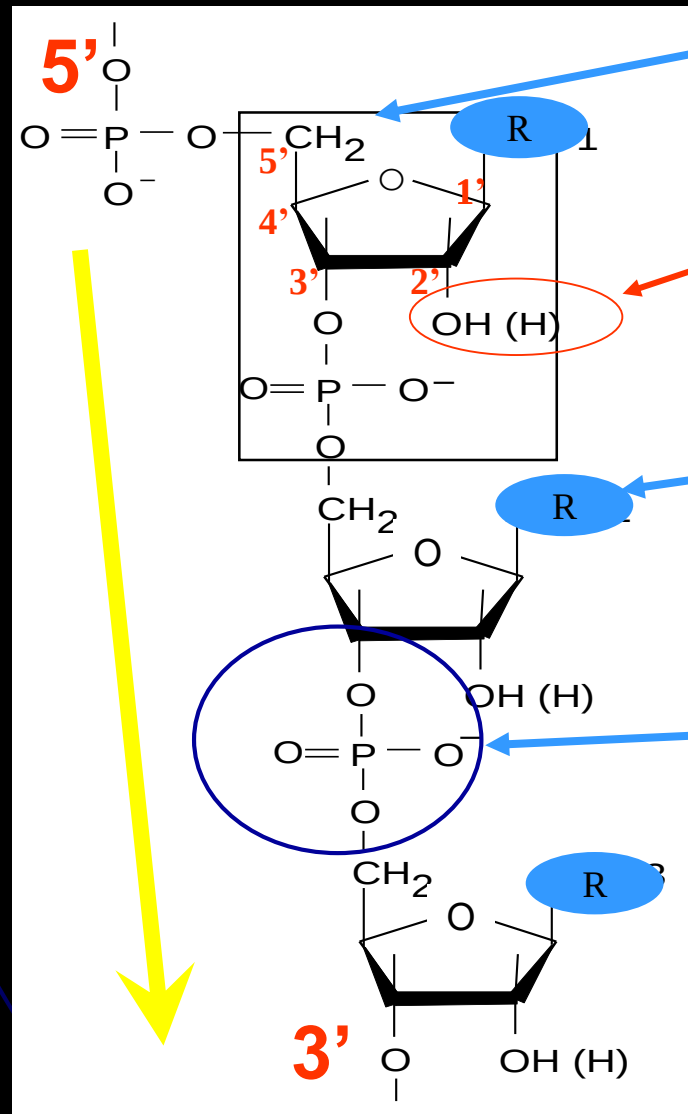


Структура полинуклеотидной цепи

ДНК — это длинная полимерная молекула, состоящая из повторяющихся блоков — нуклеотидов.

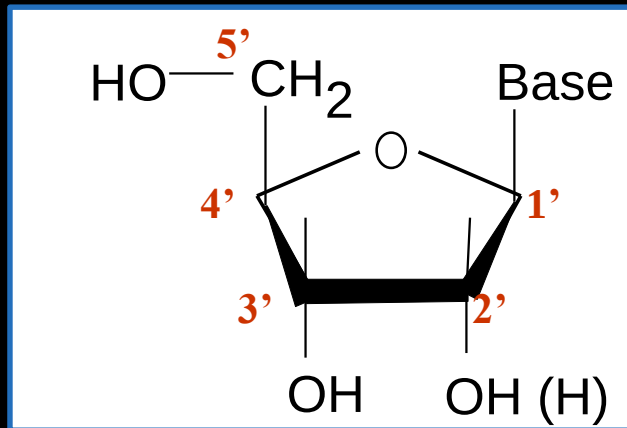
Каждый нуклеотид состоит из азотистого основания, сахара (дезоксирибозы) и фосфатной группы.

Связи между нуклеотидами в цепи образуются за счёт дезоксирибозы и фосфатной группы.



Общая структура нуклеозида

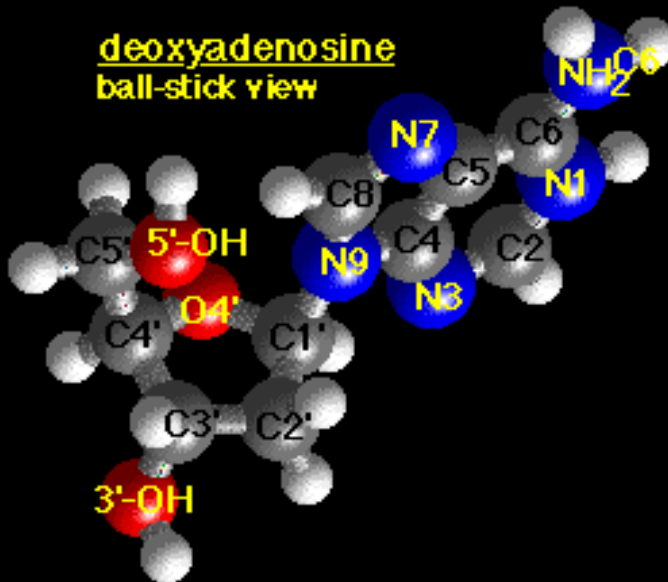
В состав нуклеозида
входят гетероциклическое основание +
углеводный остаток



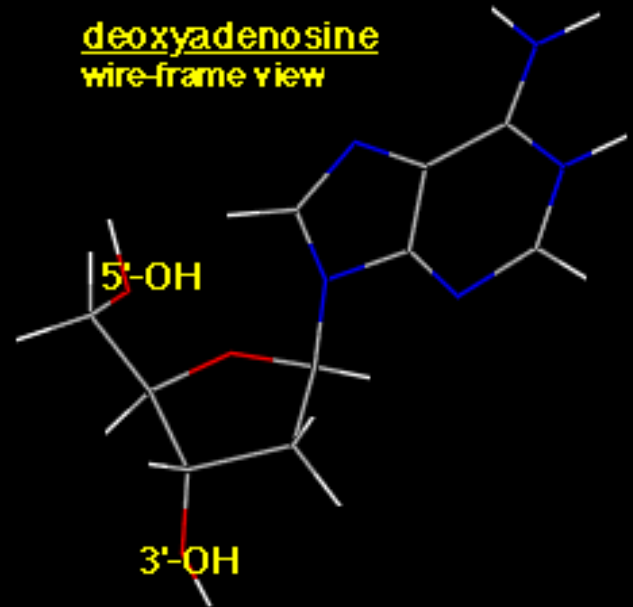
2'-дезоксирибоза

рибоза

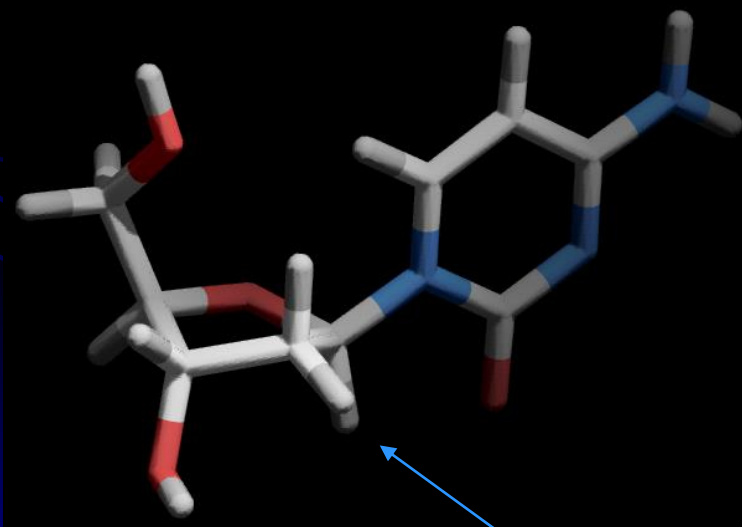
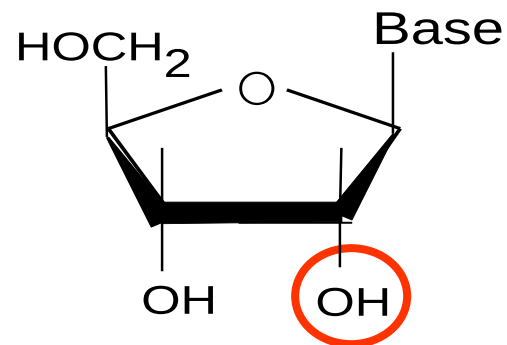
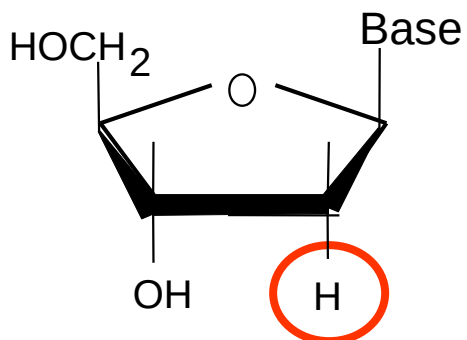
deoxyadenosine
ball-stick view



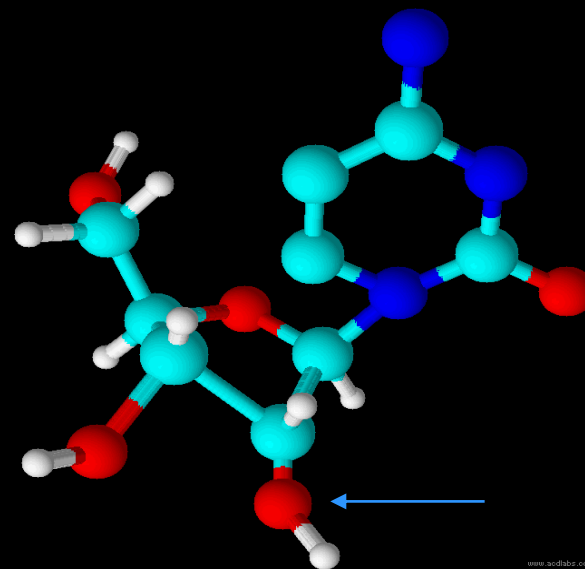
deoxyadenosine
wire-frame view



Структура сахара в нуклеозидах



ДНК = дезоксирибонуклеиновая кислота

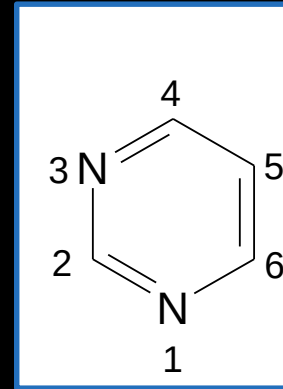


РНК = рибонуклеиновая кислота

Структура пиримидиновых оснований

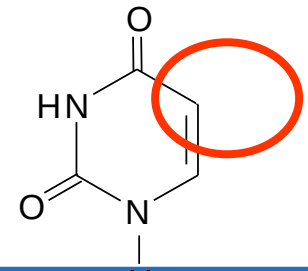
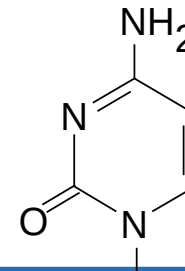
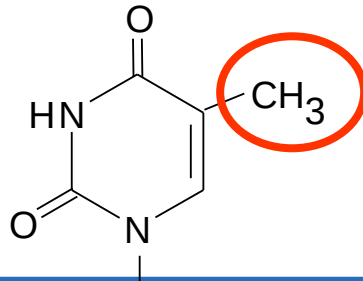
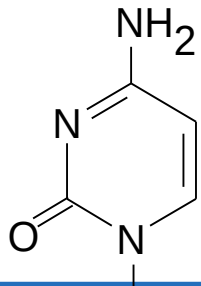
В ДНК и РНК
присутствуют основания
двух типов: пурины и
пиримидины

Py₂; Py



ДНК

РНК



С

Т

С

U

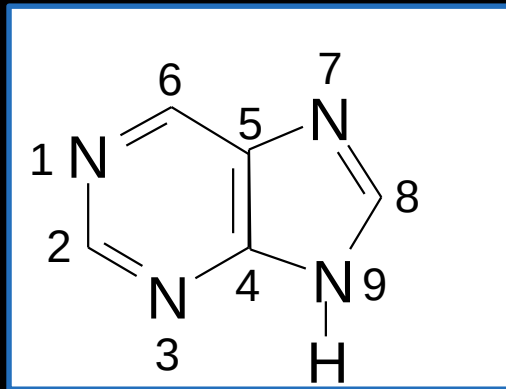
Т, Thy - **ТИМИН**; 2,4-диоксо-5-метил-тетрагидропиримидин

U, Ura - **УРАЦИЛ**; 2,4-диоксо-тетрагидропиримидин

С, Cyt - **ЦИТОЗИН**; 2-оксо-4-амино-дигидропиримидин

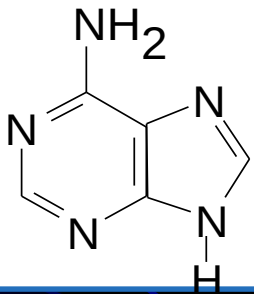
Структура пуриновых оснований

Pur; Pu

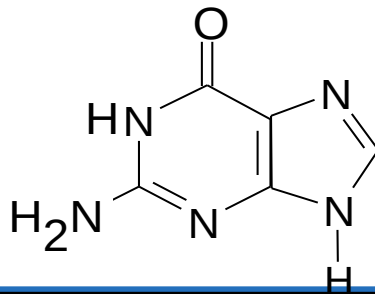


ДНК

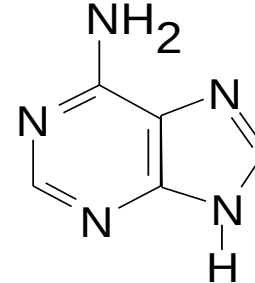
РНК



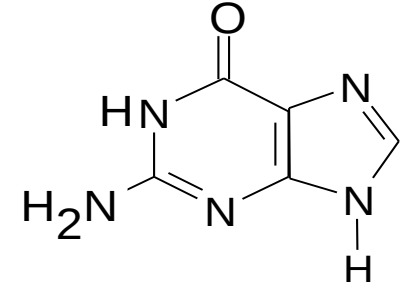
A



G



A



G

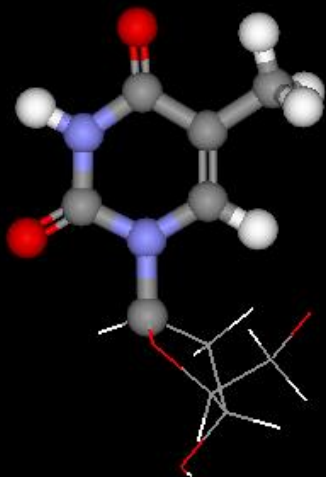
A, Ade - аденин; 6-аминопурин

G, Gua - гуанин; 2-амино-6-оксо-дигидропурин

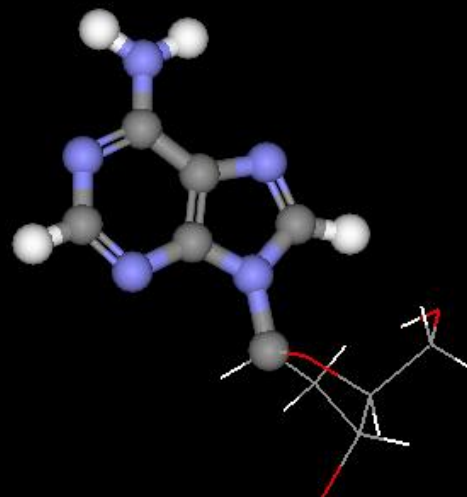
Base:

Гетероциклические основания

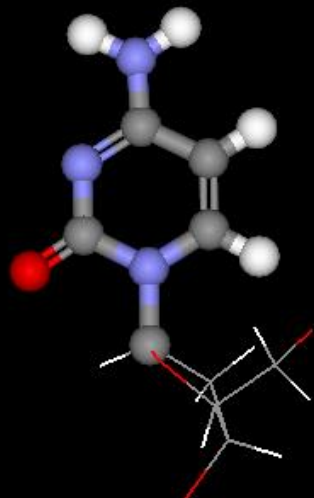
T



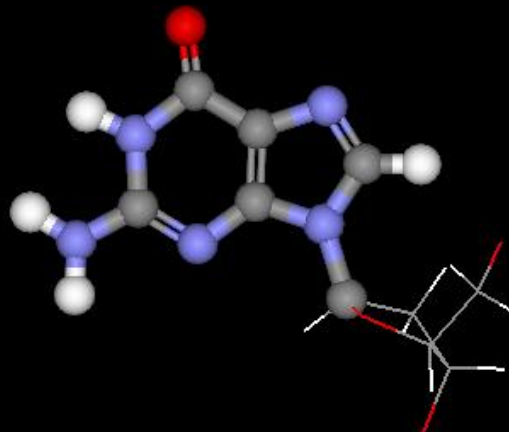
A



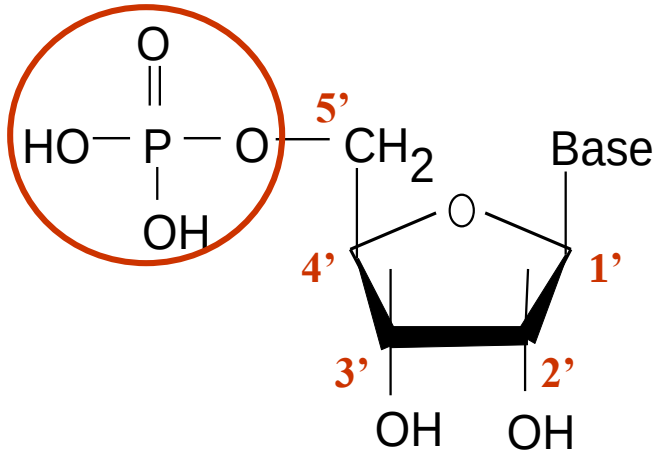
C



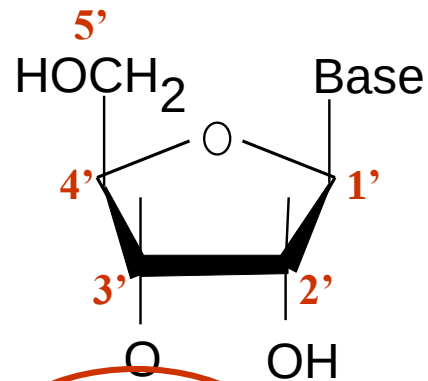
G



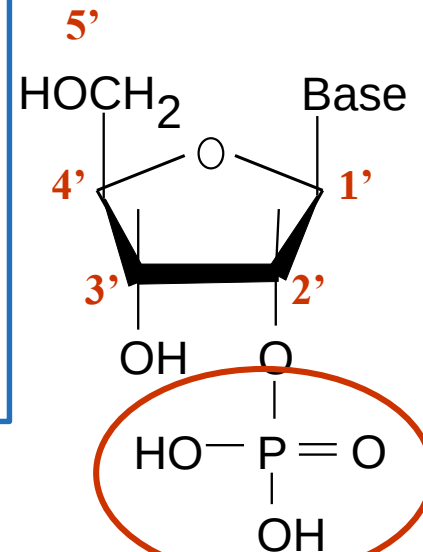
Структура нуклеотидов



нуклеозид-5'-фосфат



нуклеозид-3'-фосфат



нуклеозид-2'-фосфат

Номенклатура

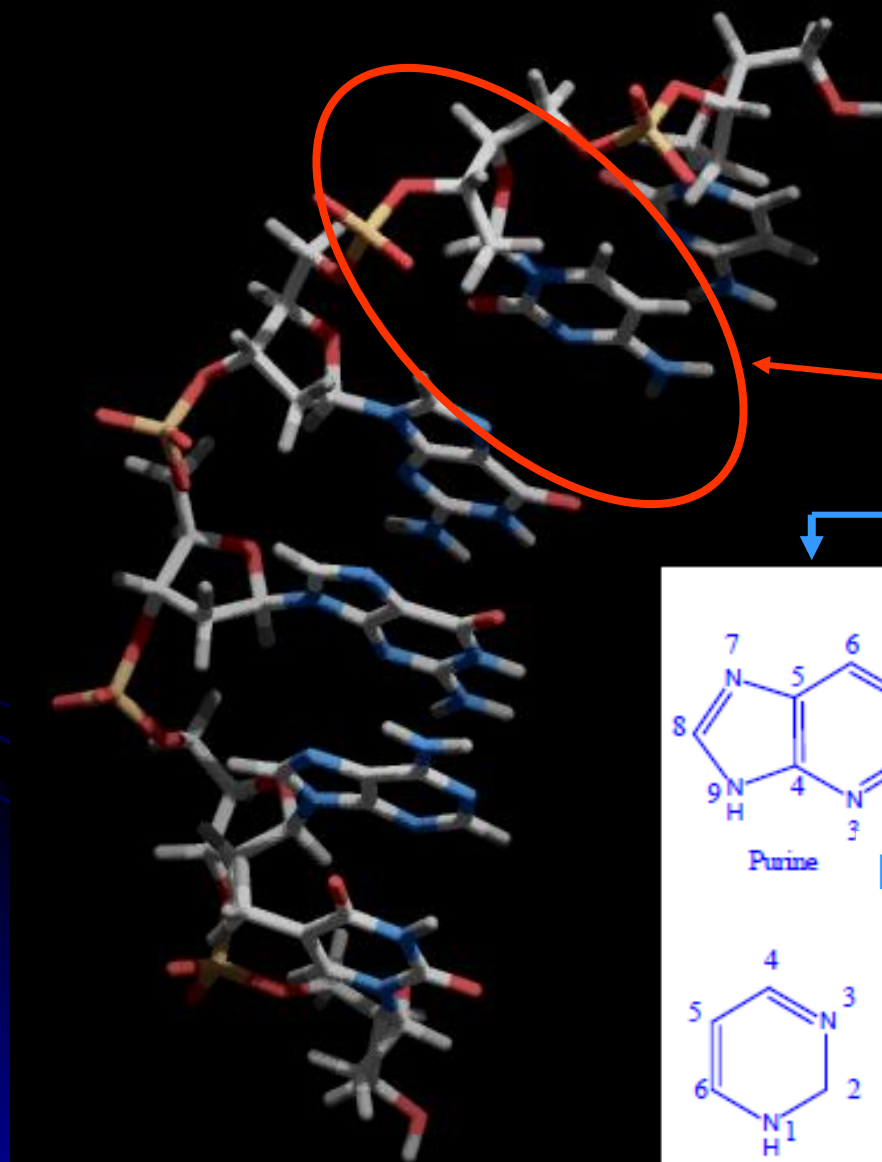
- IUPAC-IUB Commission on Biochemical Nomenclature (CBN) Abbreviations and Symbols for Nucleic Acids, Polynucleotides and their Constituents, 1970
- Если аббревиатура начинается со строчной буквы «д» (англ. d) значит подразумевается дезоксирибонуклеотид;
отсутствие буквы - рибонуклеотид;
«ц» (англ. c) - циклическая форма нуклеотида

dAMP или дАМФ

1 2 3

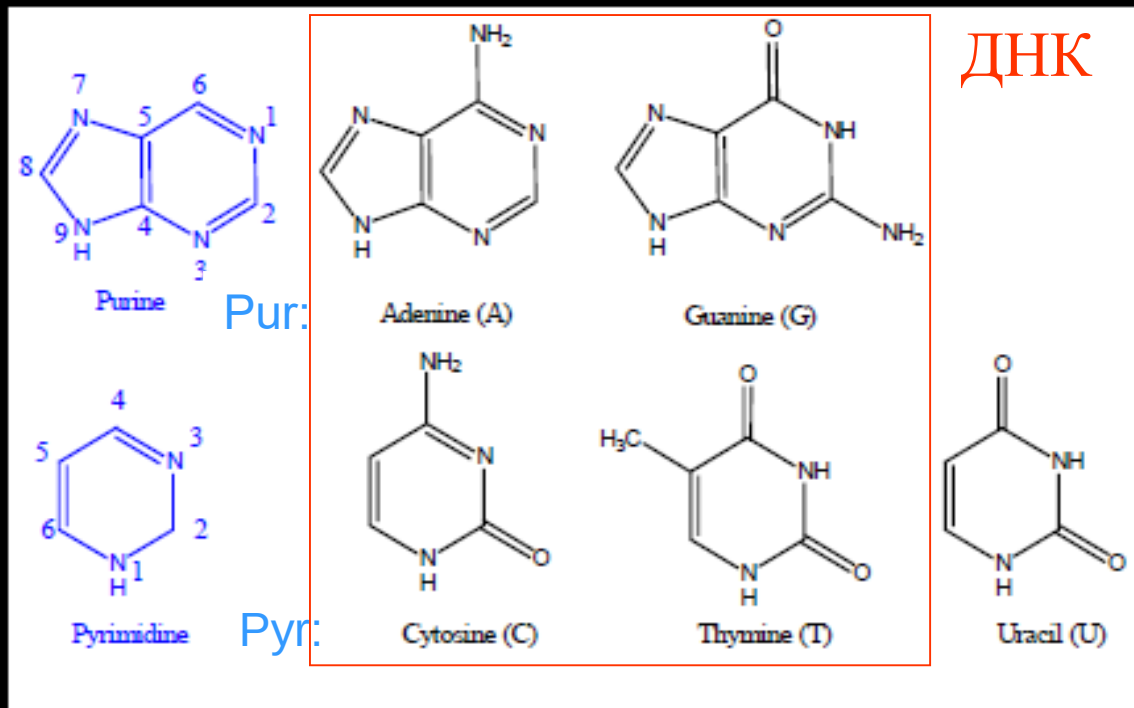
- Первая прописная буква аббревиатуры указывает на конкретное азотистое основание, вторая буква — на количество остатков фосфорной кислоты в структуре (М — моно-, Д — ди-, Т — три-), а третья прописная буква — всегда буква Ф («-фосфат»; англ. P) и это нуклеозид-5'-фосфат

Первичная структура НК



✓ определяется последовательностью нуклеотидных звеньев (нуклеотидов), связанных между собой ковалентными связями в полинуклеотидной цепи

✓ нуклеотид – это углеводный остаток, и фосфатная группа + гетероциклическое основание.



Пример первичной структуры ДНК - 1020 из 5386 нуклеотидов фага фХ174

1 gagttttatc gcttccatga cgcagaagtt aacactttcg gatatttctg atgagtcgaa
61 aaattatctt gataaagcag gaattactac tgcttggtta cgaattaaat cgaagtggac
121 tgctggcgga aaatgagaaa attcgaccta tccttgcgca gctcgagaag ctcttacttt
181 gcgacctttc gccatcaact aacgattctg tcaaaaactg acgcgttgga tgaggagaag
241 tggcttaata tgcttggcac gttcgtcaag gactgggtta gatatgagtc acattttggt
301 catggtagag attctcttgt tgacatttta aaagagcgtg gattactatc tgagtccgat
361 gctgttcaac cactaatagg taagaaatca tgagtcaagt tactgaacaa tccgtacggt
421 tccagaccgc tttggcctct attaagctca ttcaggcttc tgccgttttg gatttaaccg
481 aagatgattt cgatttttctg acgagtaaca aagtttggtat tgctactgac cgctctcgtg
541 ctcgtcgctg cgttgaggct tgcgtttatg gtacgctgga ctttgtggga taccctcgct
601 ttcctgctcc tgttgagttt attgctgccc tcattgctta ttatgttcat cccgtcaaca
661 ttcaaacggc ctgtctcatc atggaaggcg ctgaatttac ggaaaacatt attaatggcg
721 tcgagcgtcc ggttaaagcc gctgaattgt tcgcgtttac cttgcgtgta cgcgcaggaa
781 aactgacgt tcttactgac gcagaagaaa acgtgcgtca aaaattacgt gcggaaggag
841 tgatgtaatg tctaaaggta aaaaacgttc tggcgctcgc cctgggtcgtc cgcagccggt
901 gcgagggtact aaaggcaagc gtaaaggcgc tcgtcttttg tatgtaggtg gtcaacaatt
961 ttaattgcag gggcttcggc cccttacttg aggataaatt atgtctaata ttcaaactgg

300 ак

Ген
1 000 н

Вариантов
 4^{1000}

Длина ДНК человека

<http://nature.web.ru/>

В ядре каждой клетки человека содержится 23 пары хромосом, они содержат около 3,2 млрд. пар нуклеотидов

Суммарная длина всех 46 молекул ДНК в одной клетке равна прим. 2 м.

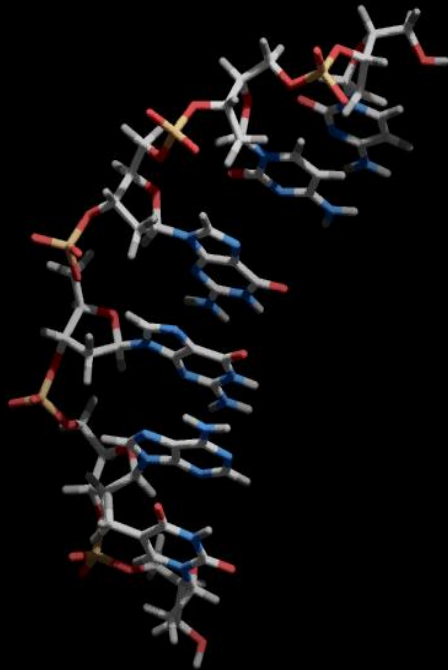
Общая длина ДНК во всех клетках человеческого тела составляет 10^{11} км, что почти в тысячу раз больше расстояния от Земли до Солнца.

Принципы структурной организации НК

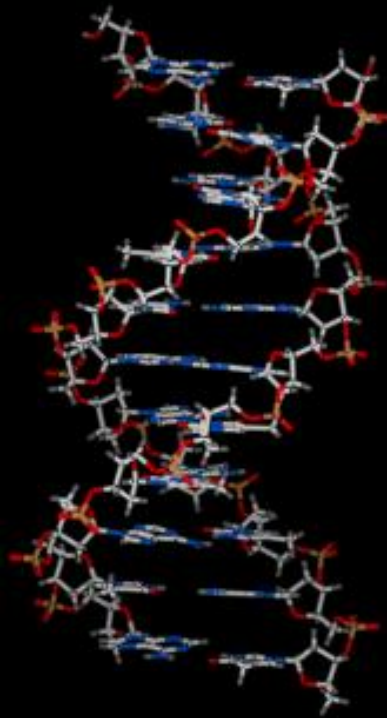
Структурная организация НК имеет несколько уровней:

первичная, вторичная, третичная структура

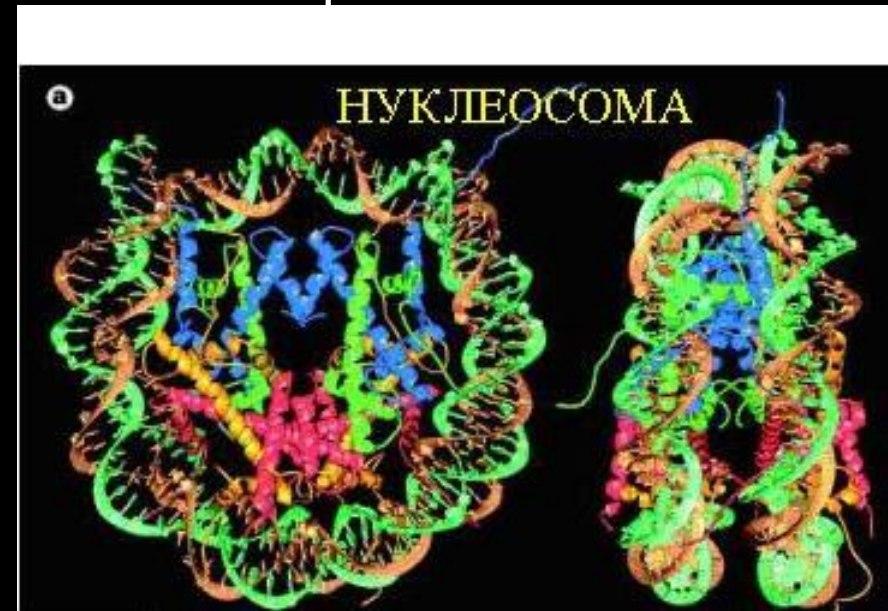
первичная



вторичная



третичная



Принципы структурной организации НК

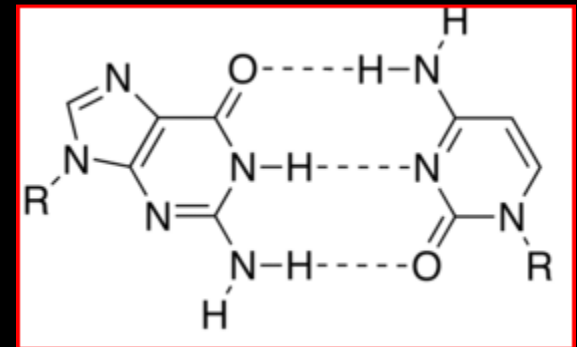
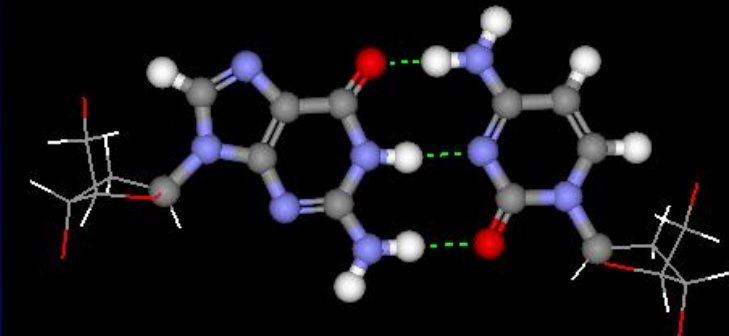
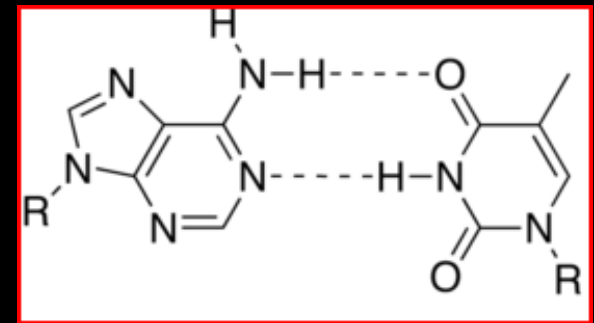
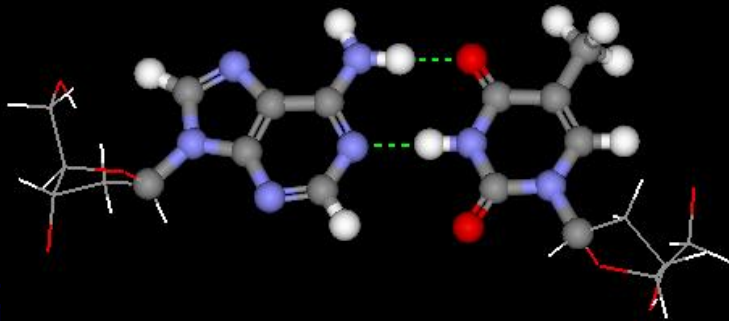
Первичная структура НК определяется последовательностью нуклеотидных звеньев, связанных между собой ковалентными связями

Макромолекулярная (вторичная, третичная) структура НК представляет собой пространственную организацию полинуклеотидных цепей и в основном определяется взаимодействием между основаниями различных нуклеотидов

Многообразие структур, образуемых НК, обусловлено возможностью формирования различных типов водородных связей между гетероциклическими основаниями

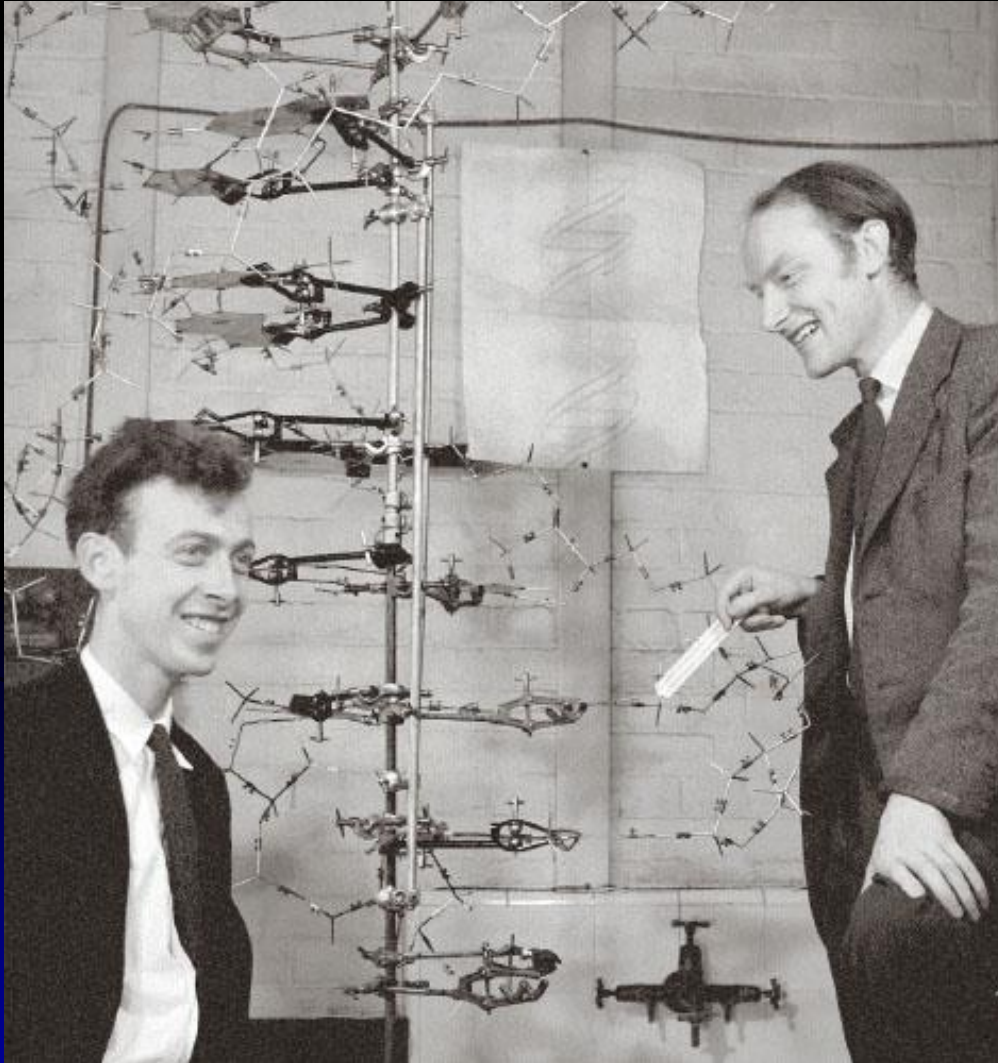
Комплементарные пары оснований (водородные связи по типу Уотсон-Крика)

- Образование водородных связей между
пурином и пиримидином (А-Т и G-C)



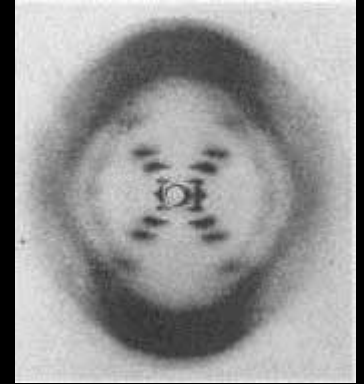
- Основной тип связей при образовании двойной спирали

ДНК как апериодический кристалл

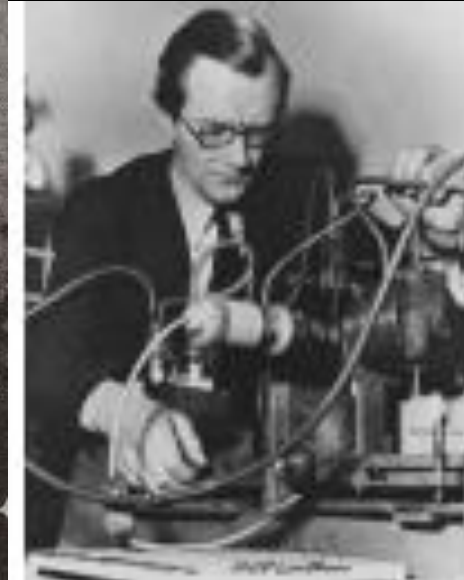


Д. Уотсон

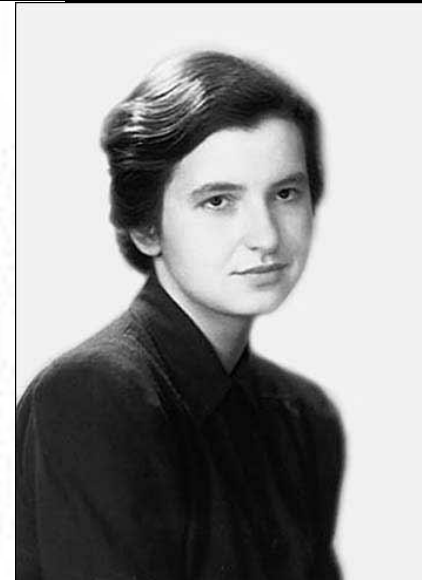
Ф. Крик



Кембридж, Англия, 1952

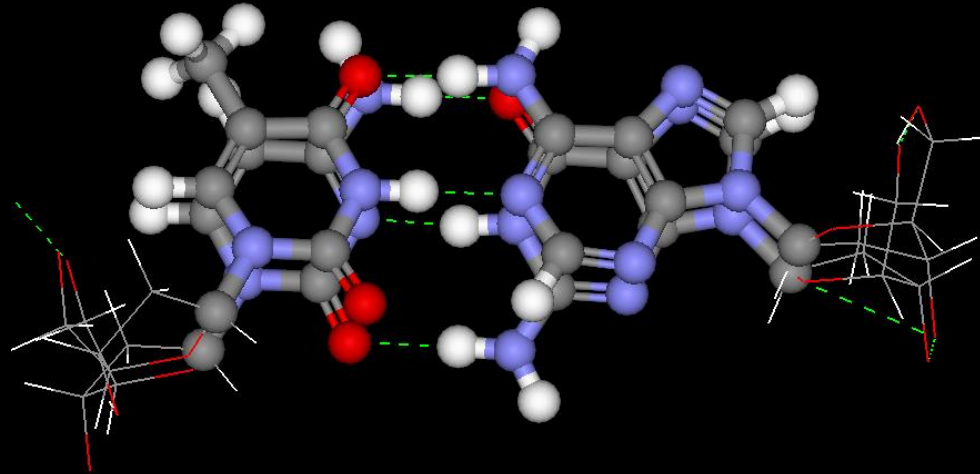


М. Уилкинс



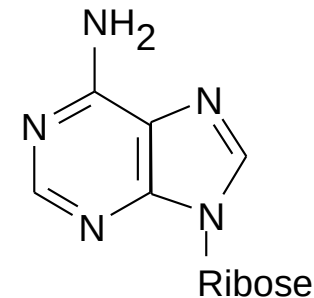
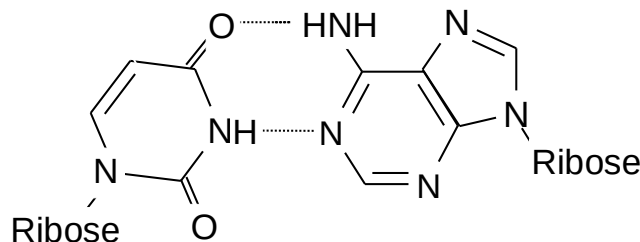
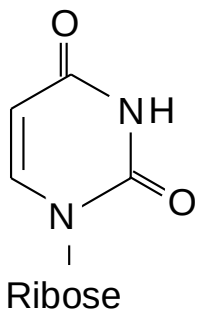
Р. Франклин

Изогометричность комплементарных пар



Одинаковая геометрия А-Т и G-С пар обеспечивает формирование ДНК-дуплексов, структура которых регулярна и мало зависит от нуклеотидного состава

Влияние первичной структуры полинуклеотидов на их свойства и пространственную структуру НК



5' TTTATT 3'

5' TAAATT 3'

5' TATATA 3'

5' TTATAA 3'

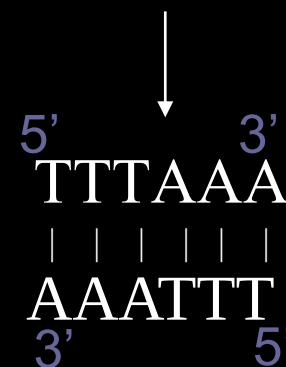
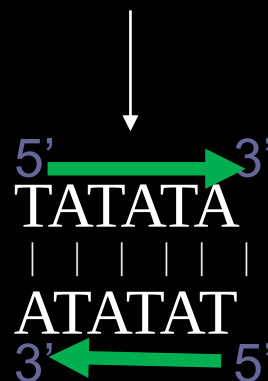
TTATTT
3' 5'

TTAAAT
3' 5'

ATATAT
3' 5'

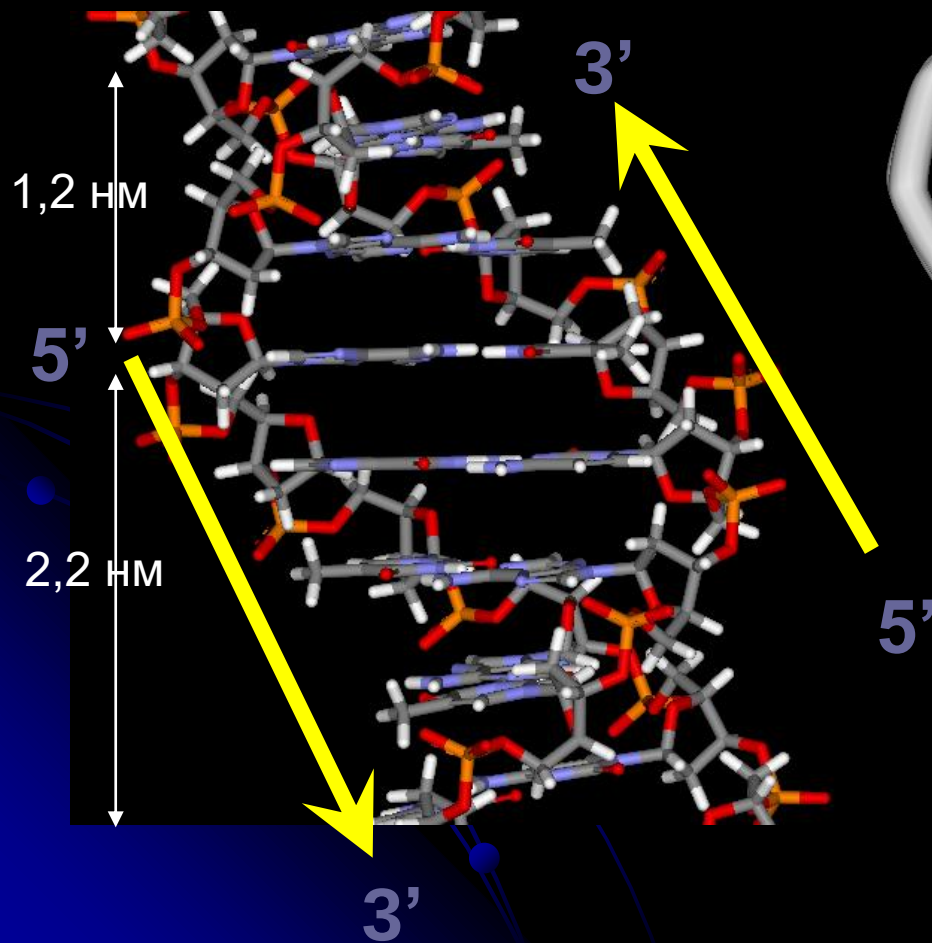
AAATTT
3' 5'

Уотсон-криковские пары оснований реализуются в анти-параллельных дуплексах

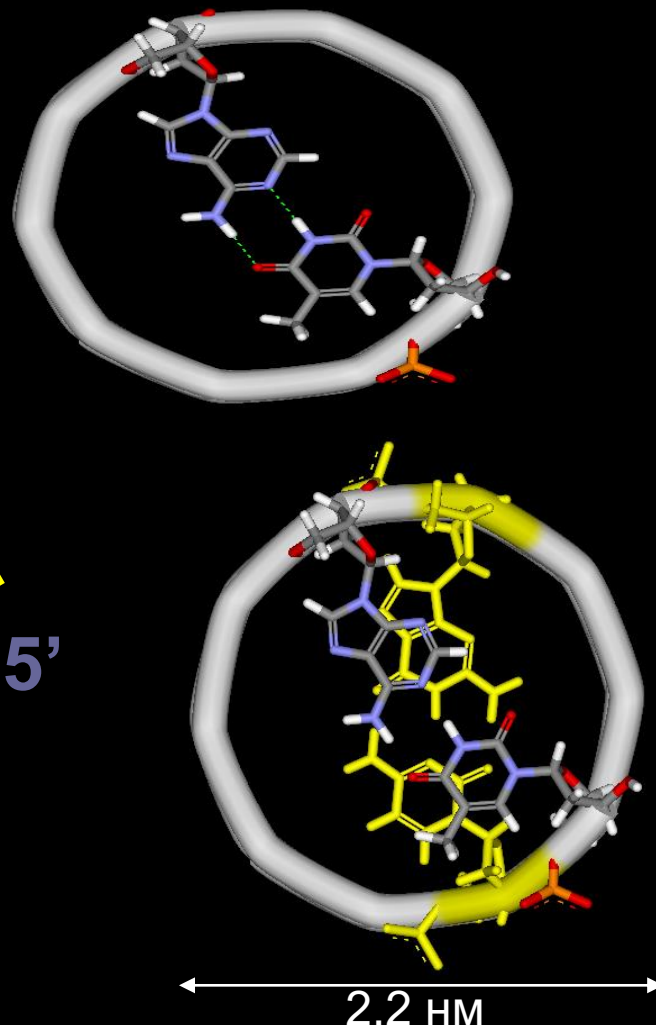


Двойная спираль ДНК

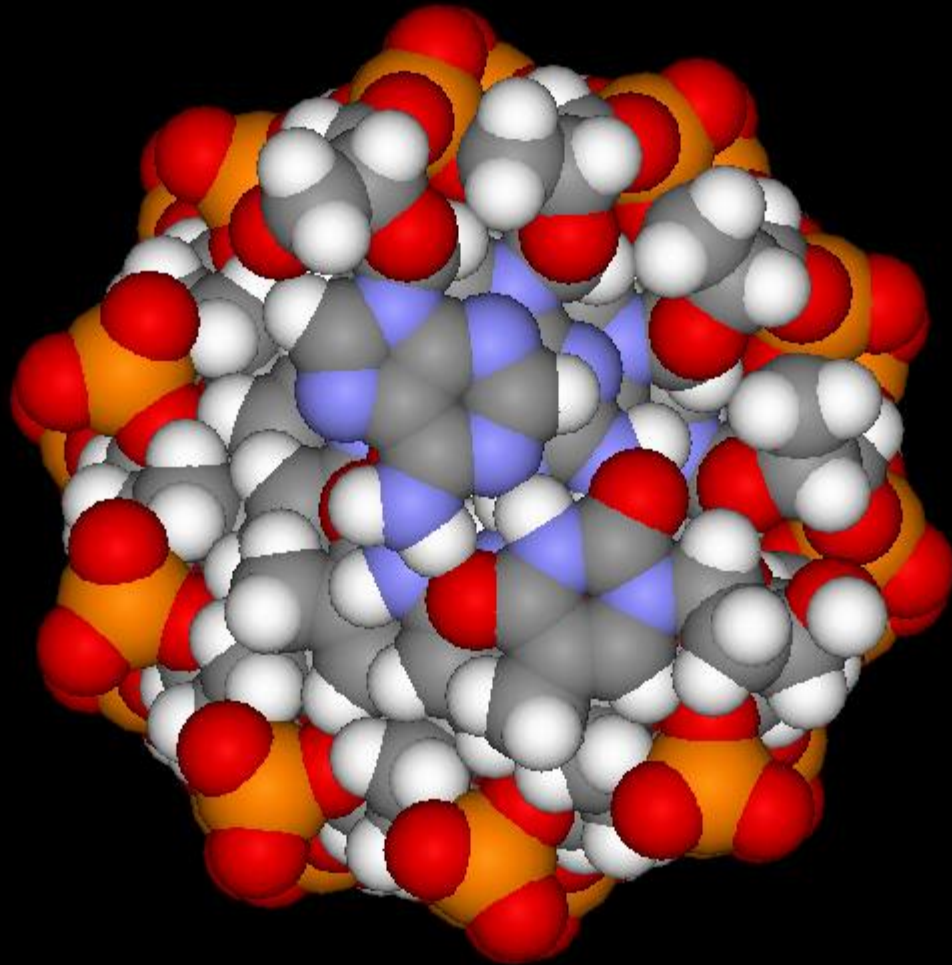
вид сбоку



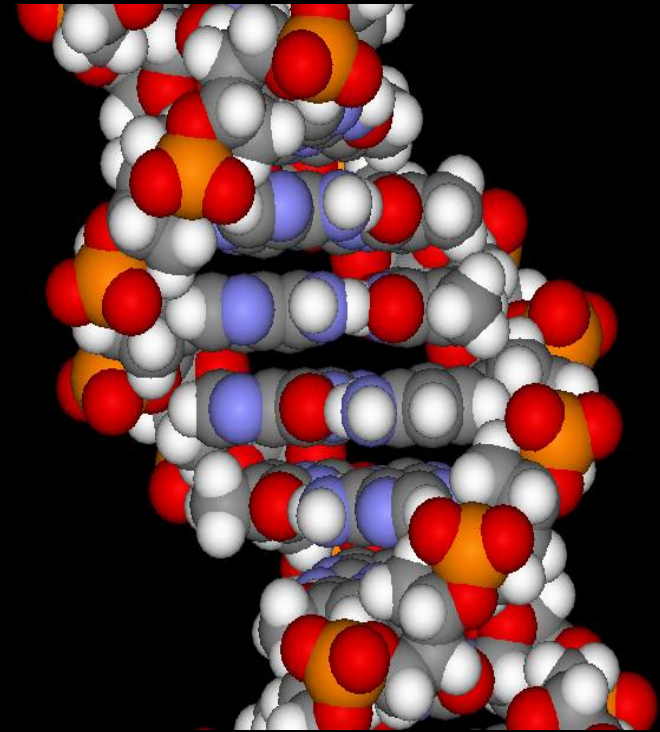
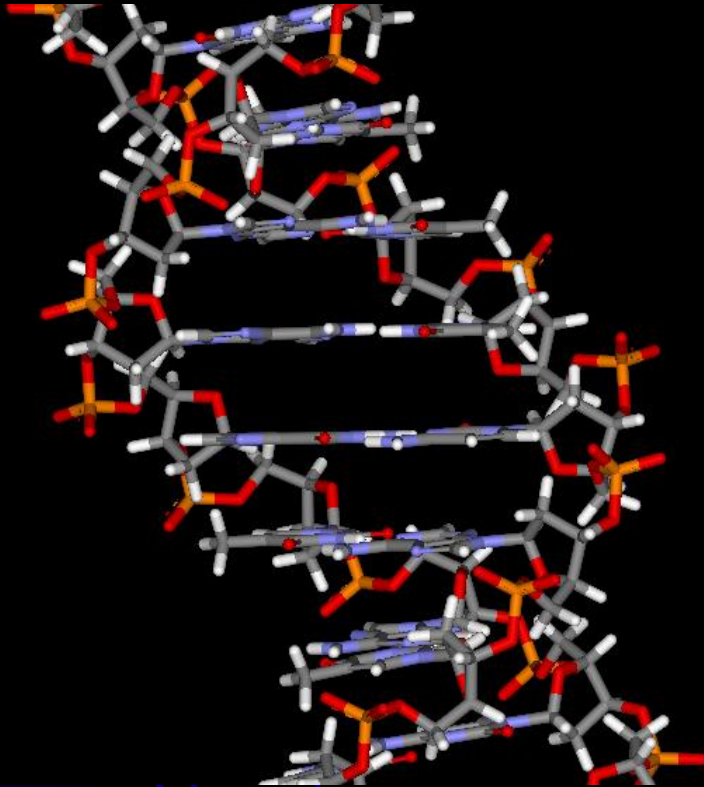
вид с торца



Двойная спираль ДНК (вид с торца)

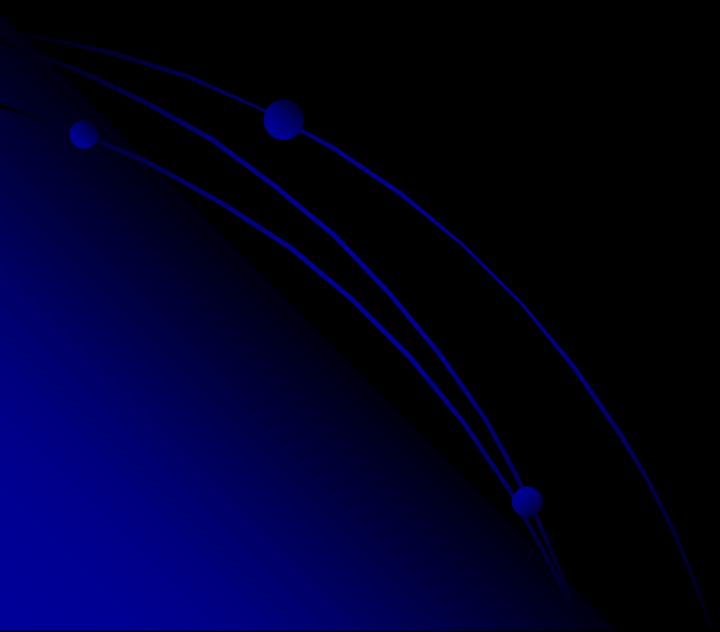


Двойная спираль ДНК (вид сбоку)



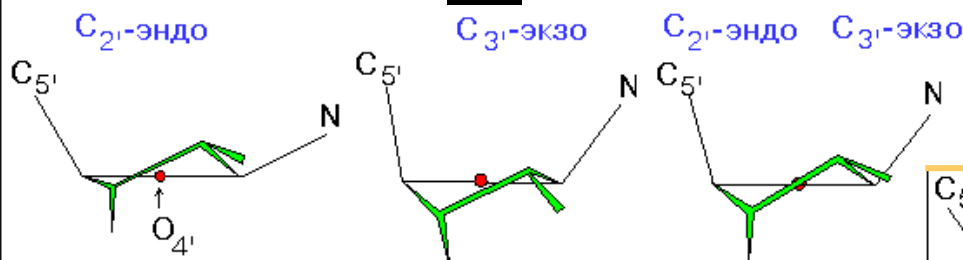
Вторичная структура ДНК - двойная спираль

1. Анти-параллельность двух цепей
2. **Изогеометрические комплементарные пары** -
регулярность структуры двойной спирали
3. **Стекинг** - взаимодействия - «стопка монет»



Полиморфизм двойных спиралей

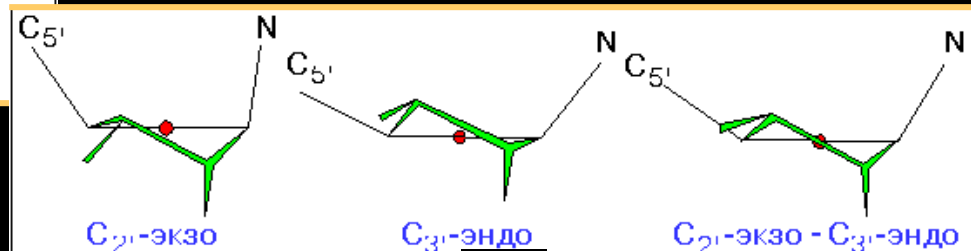
S



В-форма

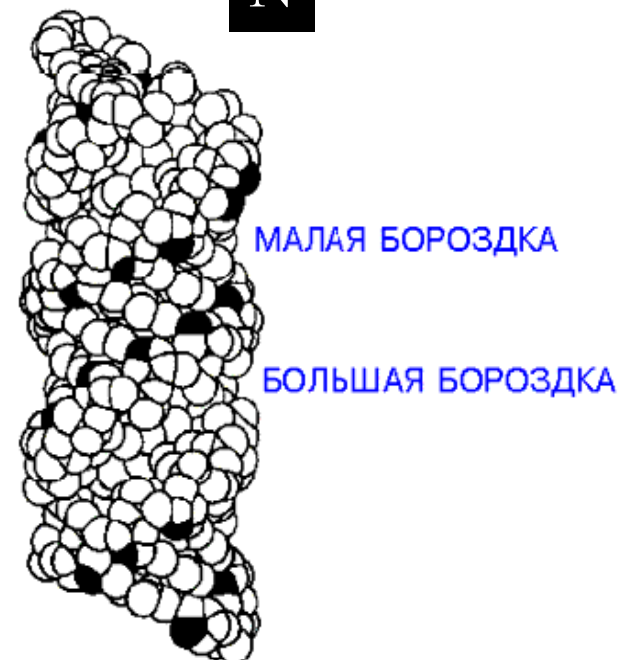


Свойственна двуспиральной РНК



N

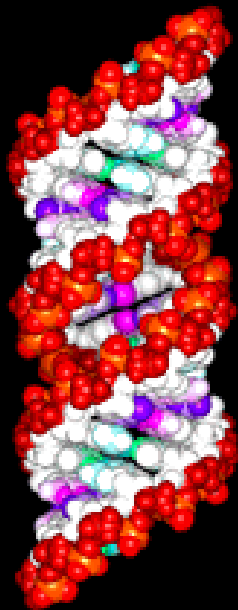
А-форма



Полиморфизм двойных спиралей ДНК

Двойная спираль ДНК подвергается различным структурным перестройкам, приводящим к появлению целого ряда форм: **правых спиралей** А, В, С. Z-форма ДНК представляет собой **левую спираль**.

A-DNA



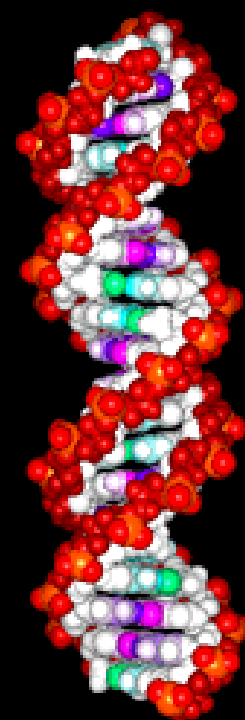
11 пар на виток

Z-DNA

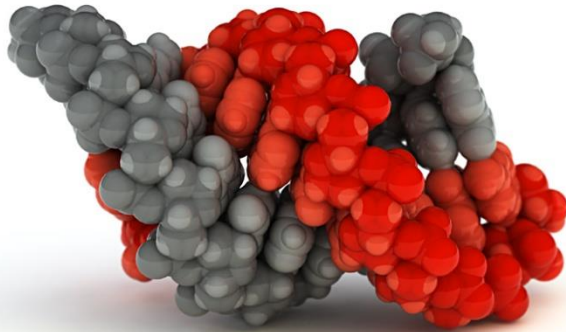


9,7 пар на виток

B-DNA



12 пар на виток

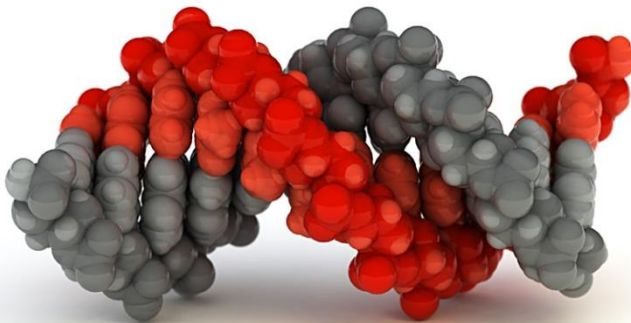
A

A-форма

www.visualscience.ru

Условия образования:

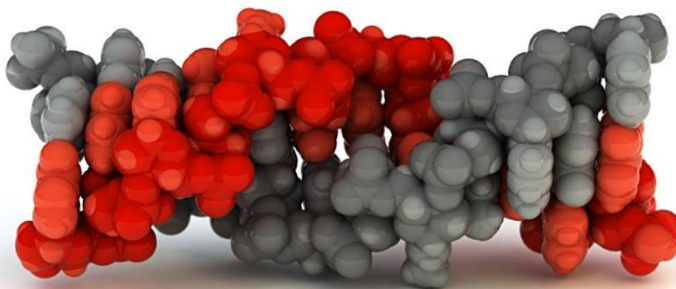
← Образуется при
понижение относительной влажности
при добавлении неэлектролитов
(например, этанола),
в РНК/ДНК-дуплексах

B

B-форма

www.visualscience.ru

← Наиболее распространена B-форма!
Глубина большой бороздки
составляет 0,85 нм, а малой
— 0,75 нм

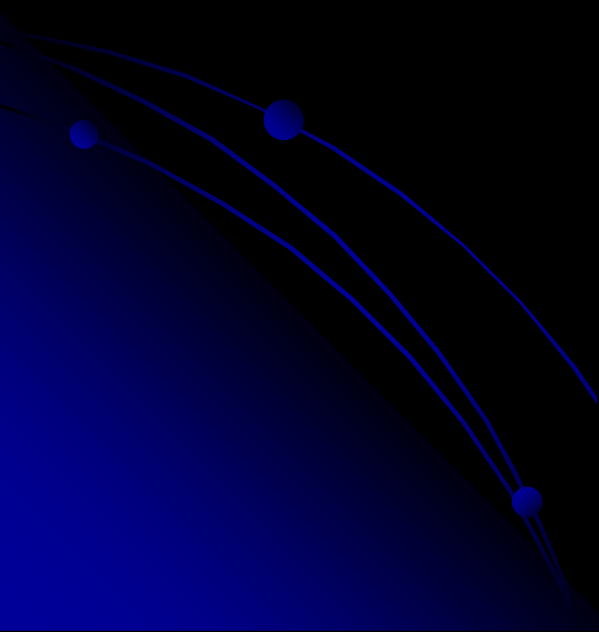
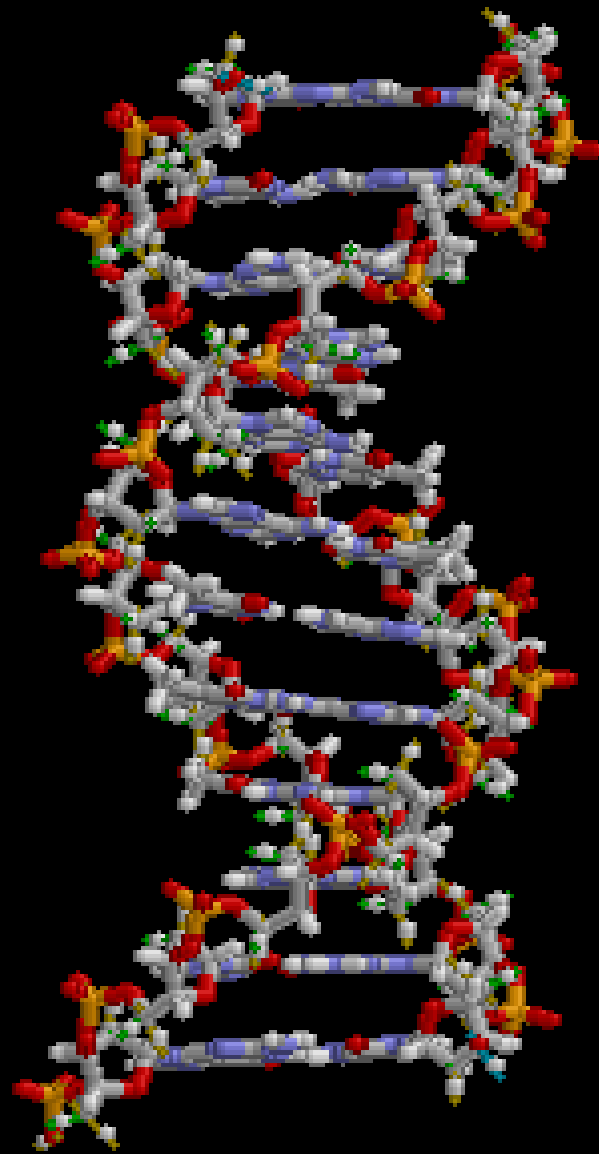
Z

Z-форма

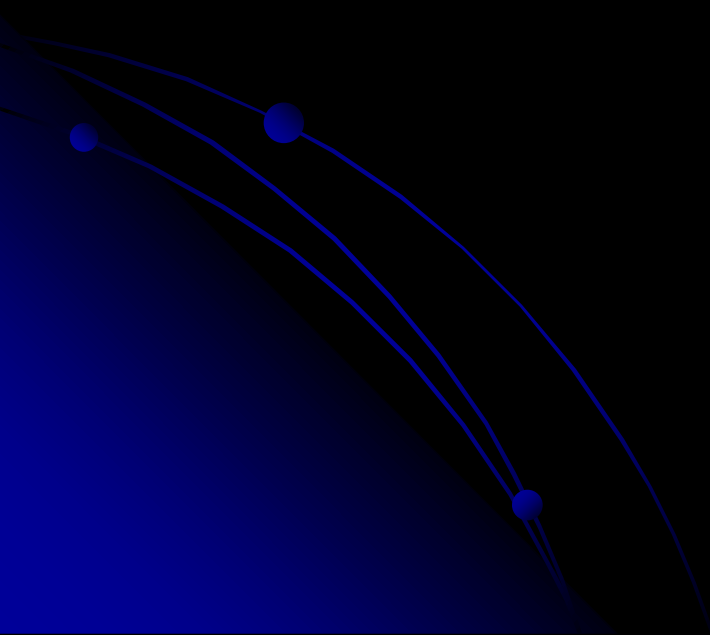
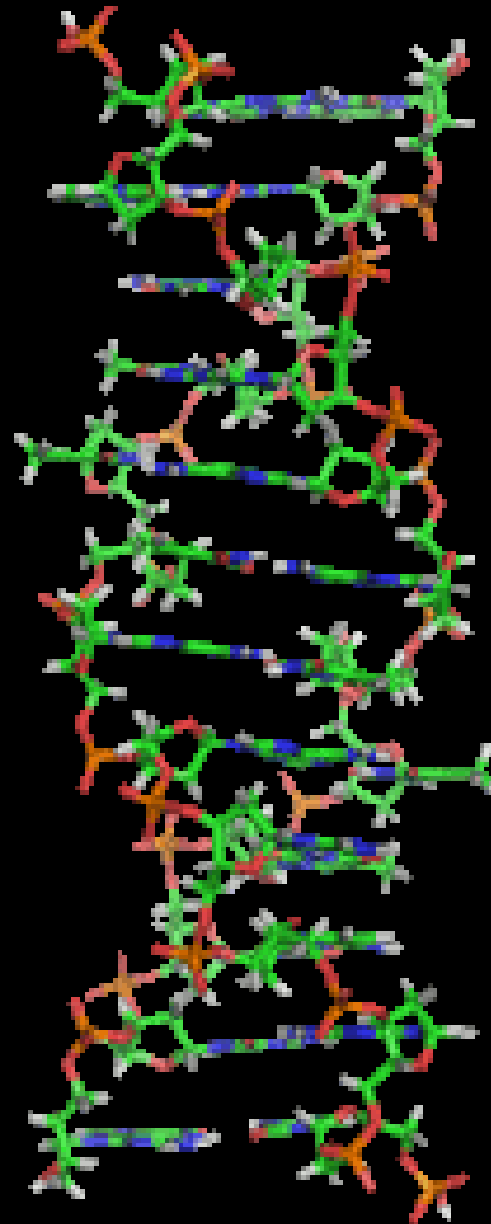
www.visualscience.ru

← Левозакрученная спираль !
Образуется при
при понижении влажности
или увеличении концентрации солей
чаще в богатых CpG-повторами

В- форма двойной спирали ДНК



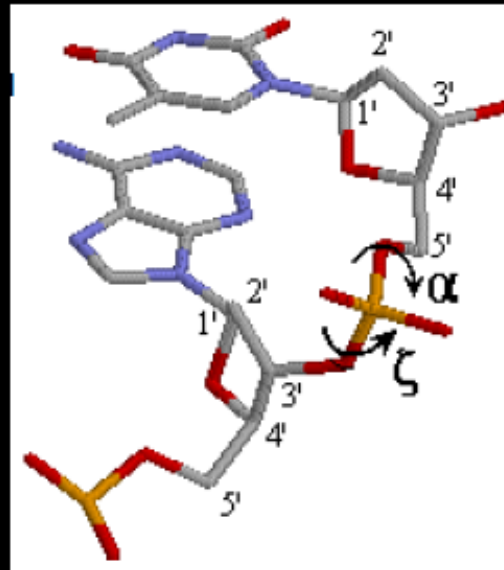
Z- форма двойной спирали ДНК



Изменение пространственной структуры при переходе от одноцепочечной к двуцепочечной ДНК

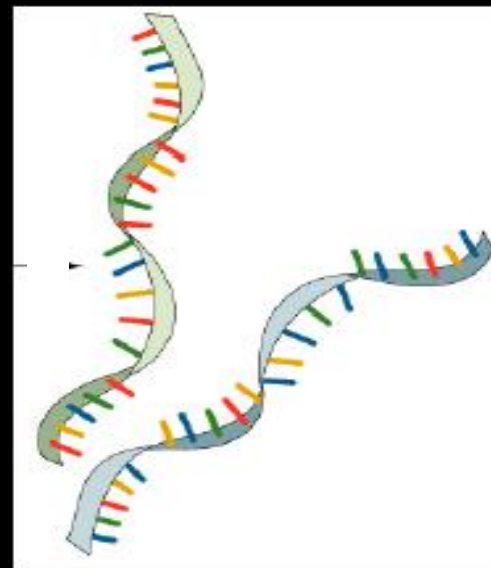
Денатурация
(«расплетание»)
двойной
спирали

«Клубок»



Ренатурация
(«образование»)
двойной
спирали

«Стержень»



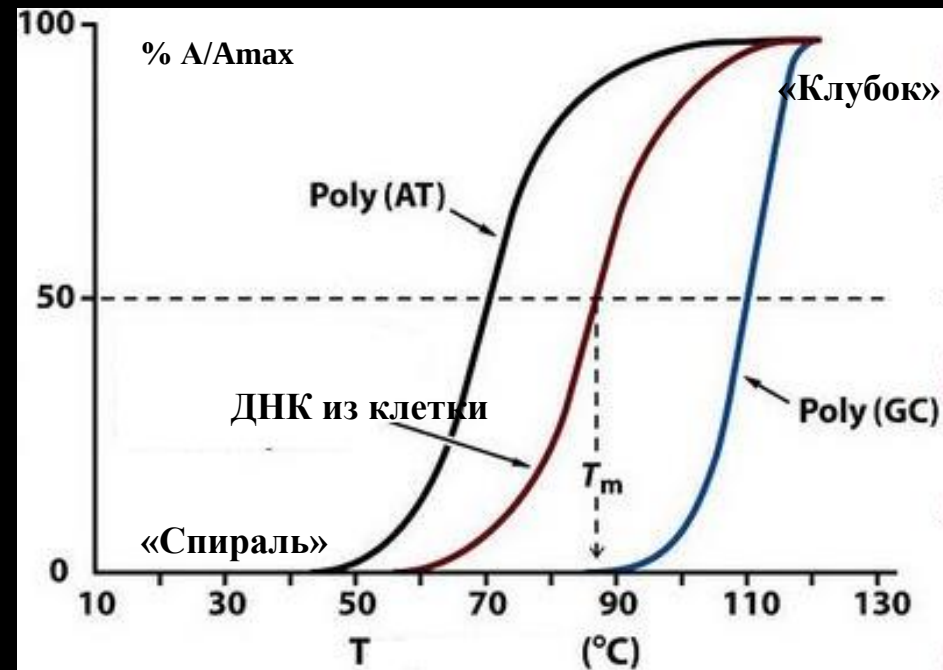
Устойчивость пространственной структуры ДНК

➤ *Характеризуется температурой плавления*

Плавление НК - процесс перехода регулярной двойной спирали в клубкообразное состояние.

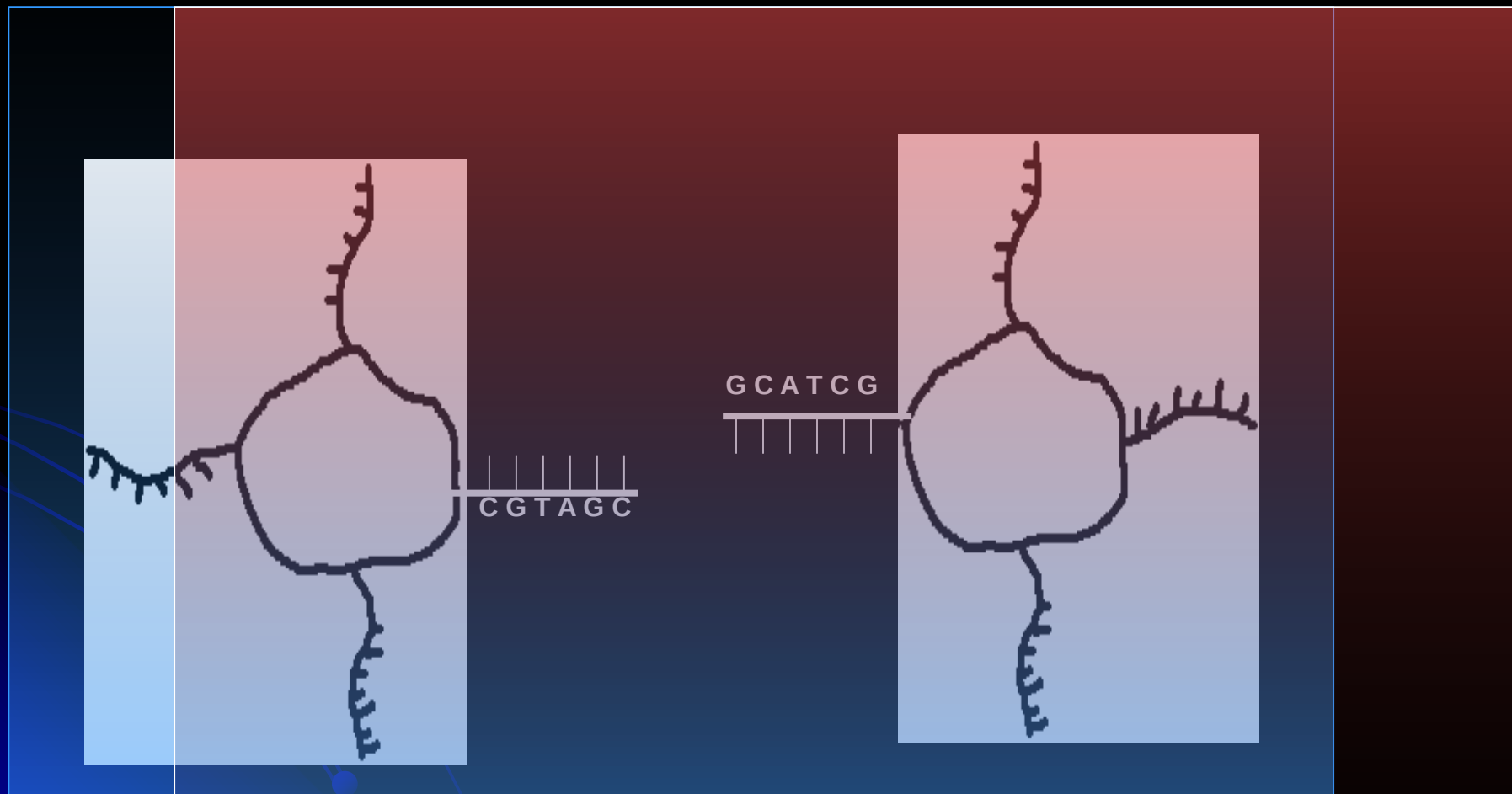
➤ *Устойчивость двойной спирали определяют:*

- количество А-Т и G-С
- длина дуплекса
- внешние условия: рН, концентрации ионов Na^+ , Mg^{2+}



**Способность к самосборке
определяется возможностью образования
водородных связей.**

Плавление – обратимый процесс.



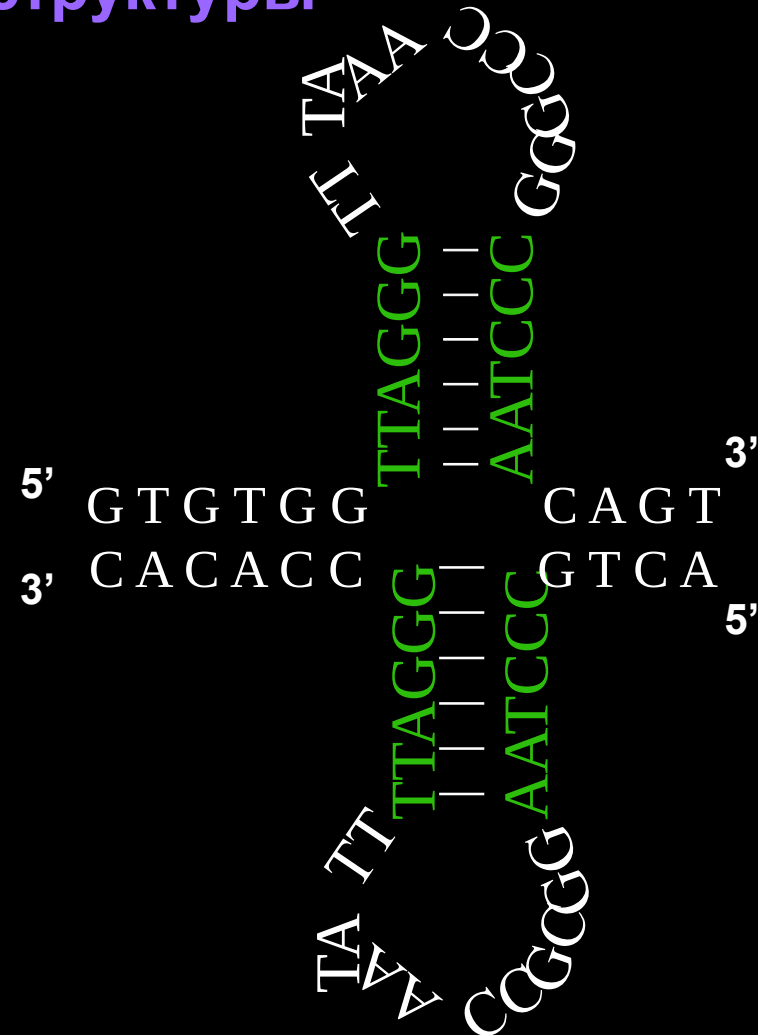
Варианты пространственной структуры



Классический дуплекс (двойная спираль)



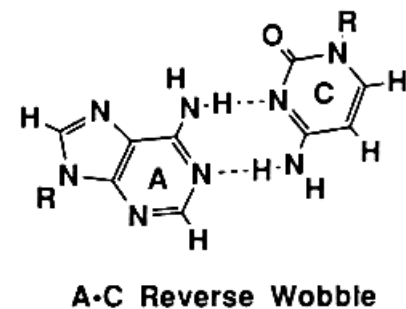
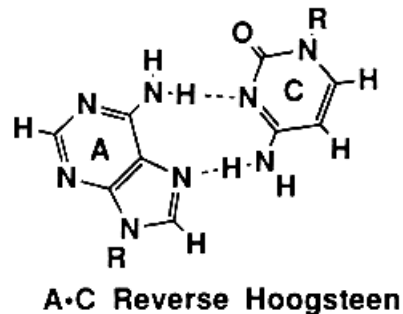
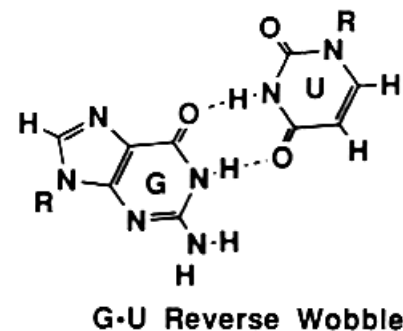
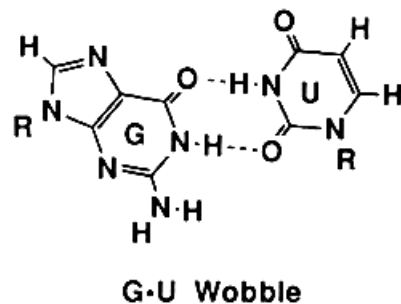
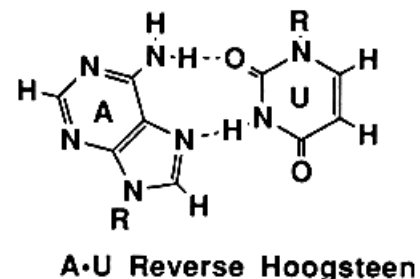
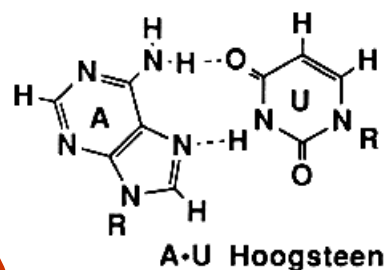
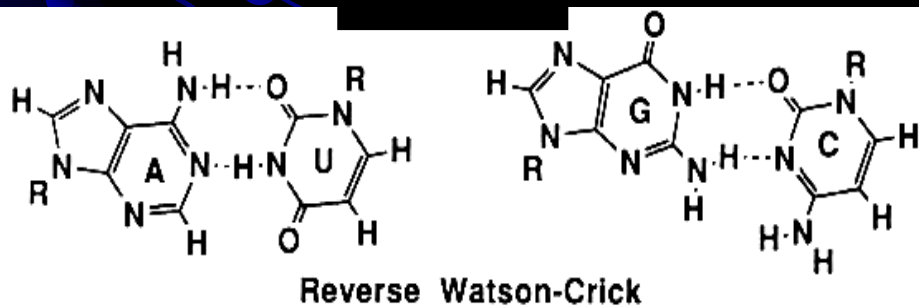
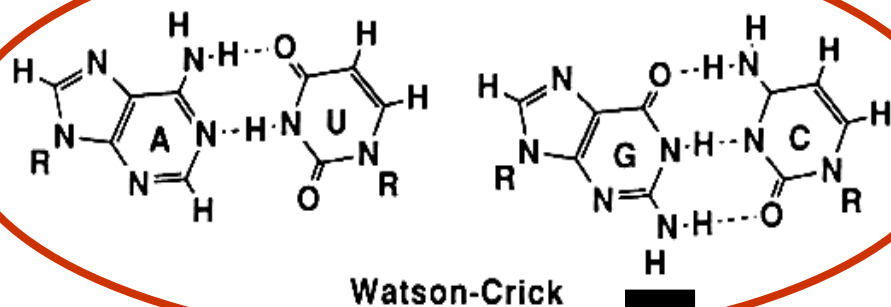
Одноцепочечные ДНК при наличии
комплементарных
последовательностей образуют
«**шпильки**»



В структуре двуцепочечных
ДНК могут возникать
«**кресты**»

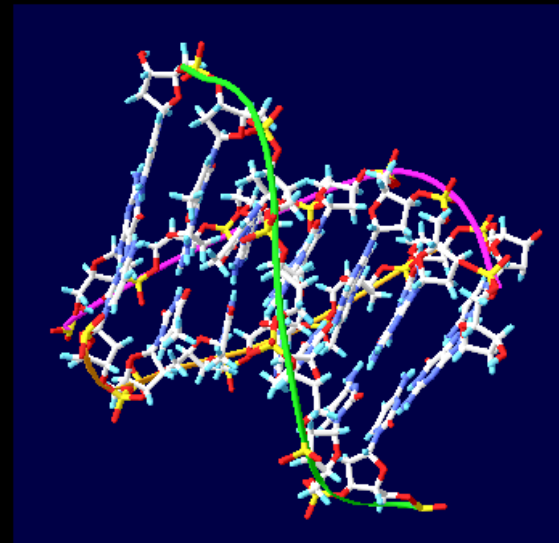
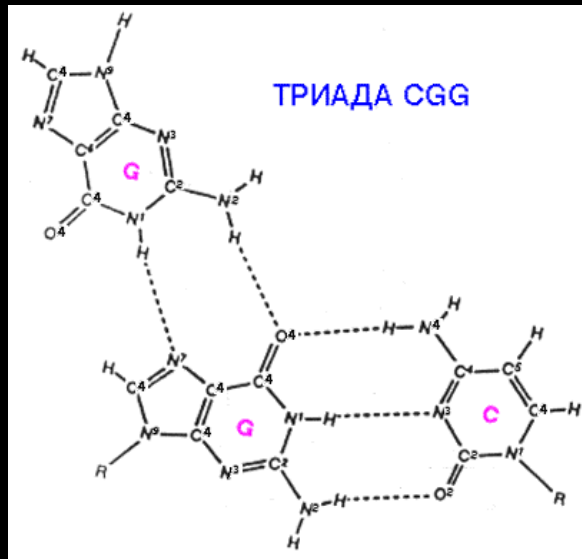
Необычные пары оснований в НК

Канонические уотсон-криковские пары

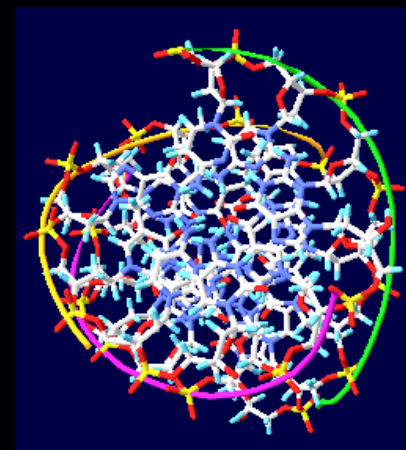
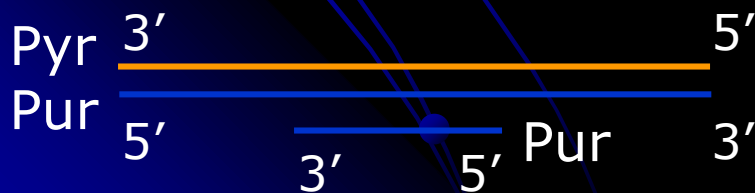


Способность к самосборке:
неканонические взаимодействия определяют
способность образовывать отличные от двойной
спирали структуры.

Триплексы.

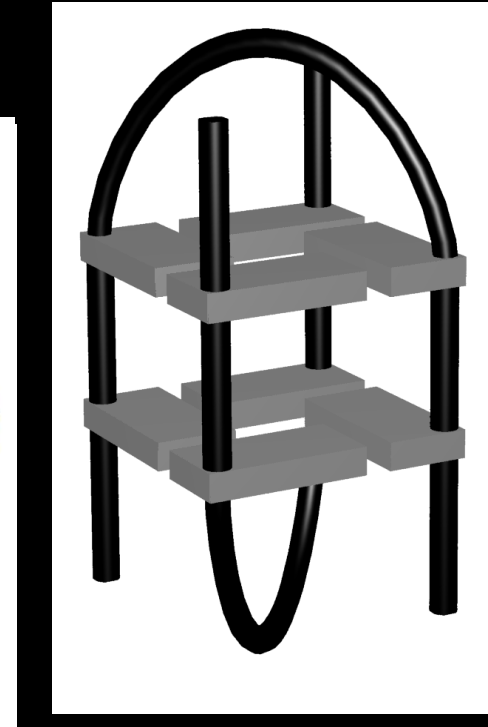
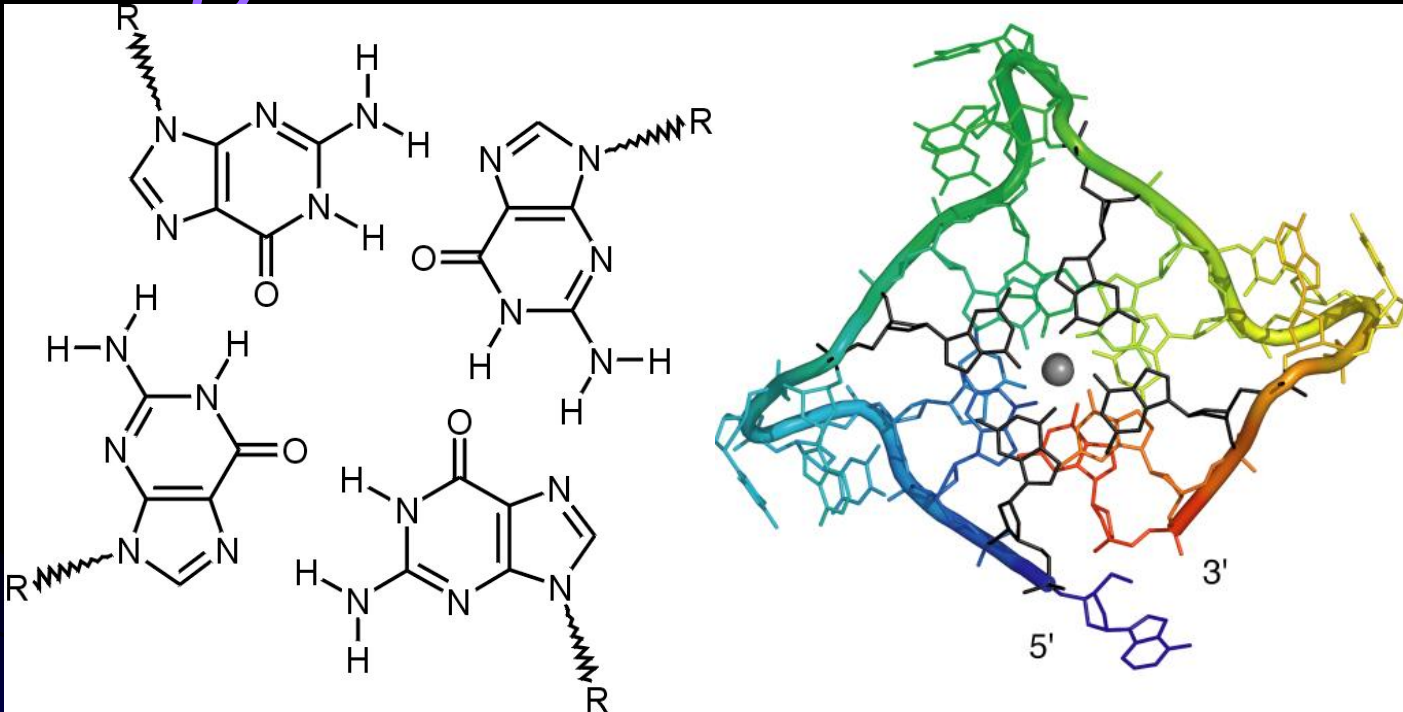


- три цепи
- устойчивы в широком диапазоне pH



Способность к самосборке: неканонические взаимодействия определяют способность образовывать отличные от двойной спирали структуры.

Квадруплексы.



- ✓ Основа квартет- образован четырьмя гуанинами
- ✓ Квартет координируются ионами металлов: K⁺, Na⁺
- ✓ Нужно 4-е цепи
- ✓ Очень стабильны, некоторые выдерживают 100 °C

