

Биохимия

Подсказка. Рисуйте структуры аккуратно. Это поможет Вам решить задачу.

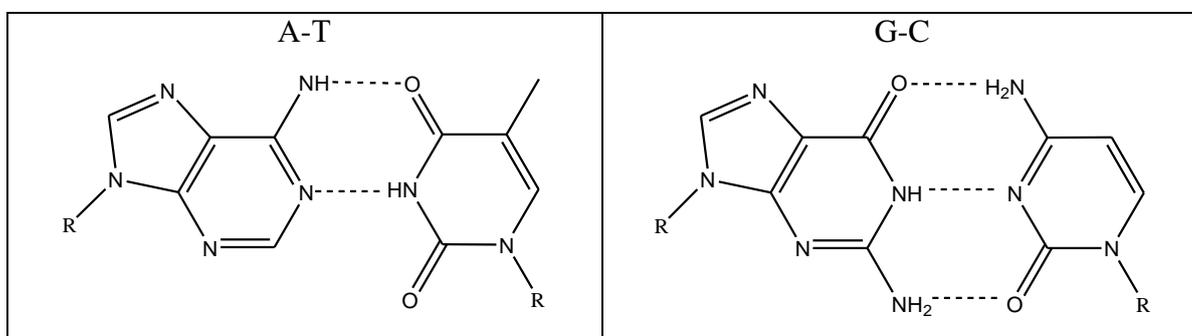
Хугстиновские пары — альтернативный вариант связывания главных азотистых оснований, предложенный К. Хустиным через 10 лет после опубликования Дж. Уотсоном и Ф. Криком модели двойной спирали. Для образования Хугстиновских пар пурины поворачиваются на 180° , в результате чего в образовании водородной связи обязательно участвует не вовлеченный в N-гликозидную связь азот пятичленного кольца пурина.

1. Изобразите Уотсон-Криковские пары А-Т и G-С с водородными связями. Примечания:

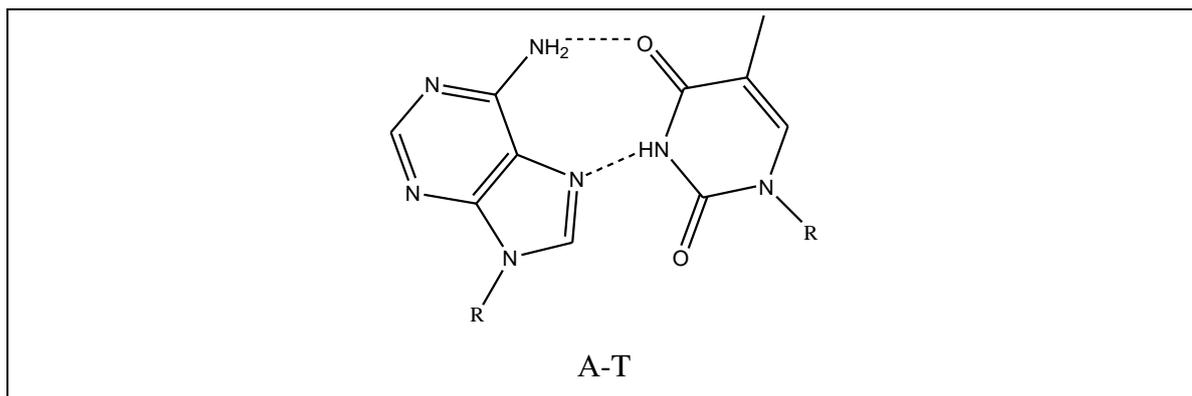
А) во всех вопросах данной задачи пара считается существующей, если между основаниями образуется не менее 2 водородных связей;

Б) здесь и далее рассматривайте только структуры оснований, содержащие экзоциклические группы в форме $-C=O$ и $-NH_2$;

В) здесь и далее обозначайте углеводную часть нуклеозида как R.

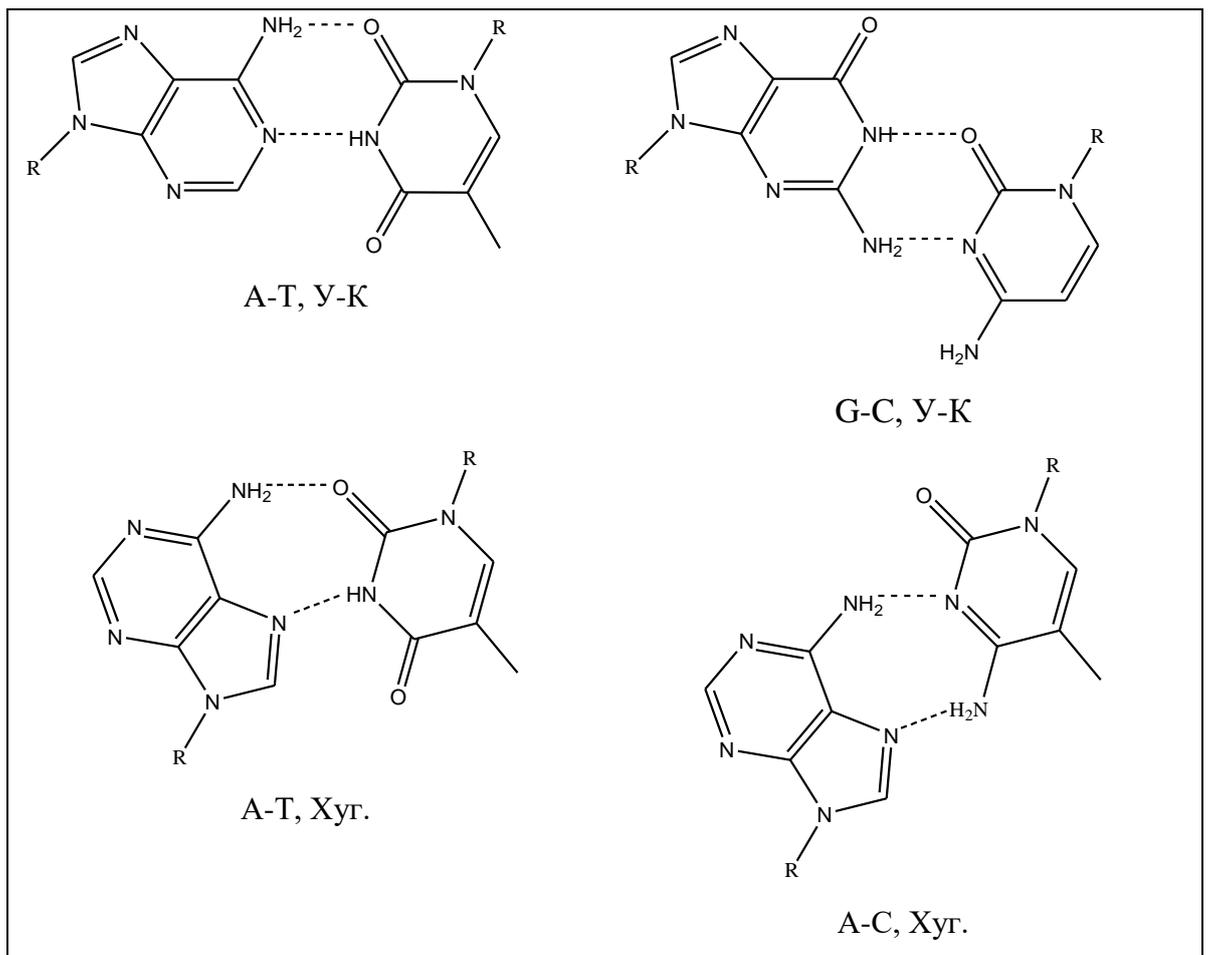


2. Изобразите все возможные (рассмотрите не только А-Т и G-С) Хугстиновские пары главных азотистых оснований ДНК. Учтите, что в Хугстиновской паре обязательно присутствуют одно пуриновой и одно пиримидиновое основание;



Как в Уотсон-Криковских, так и в Хугстиновских парах азотистые основания внутри пары могут быть ориентированы друг относительно друга двумя разными способами. Соответственно, различают прямые и обратные пары. В первом случае угол между двумя N-гликозильными связями составляет чуть менее 90° , а во втором — близок к 180° , что достигается за счет поворота пиримидинового основания.

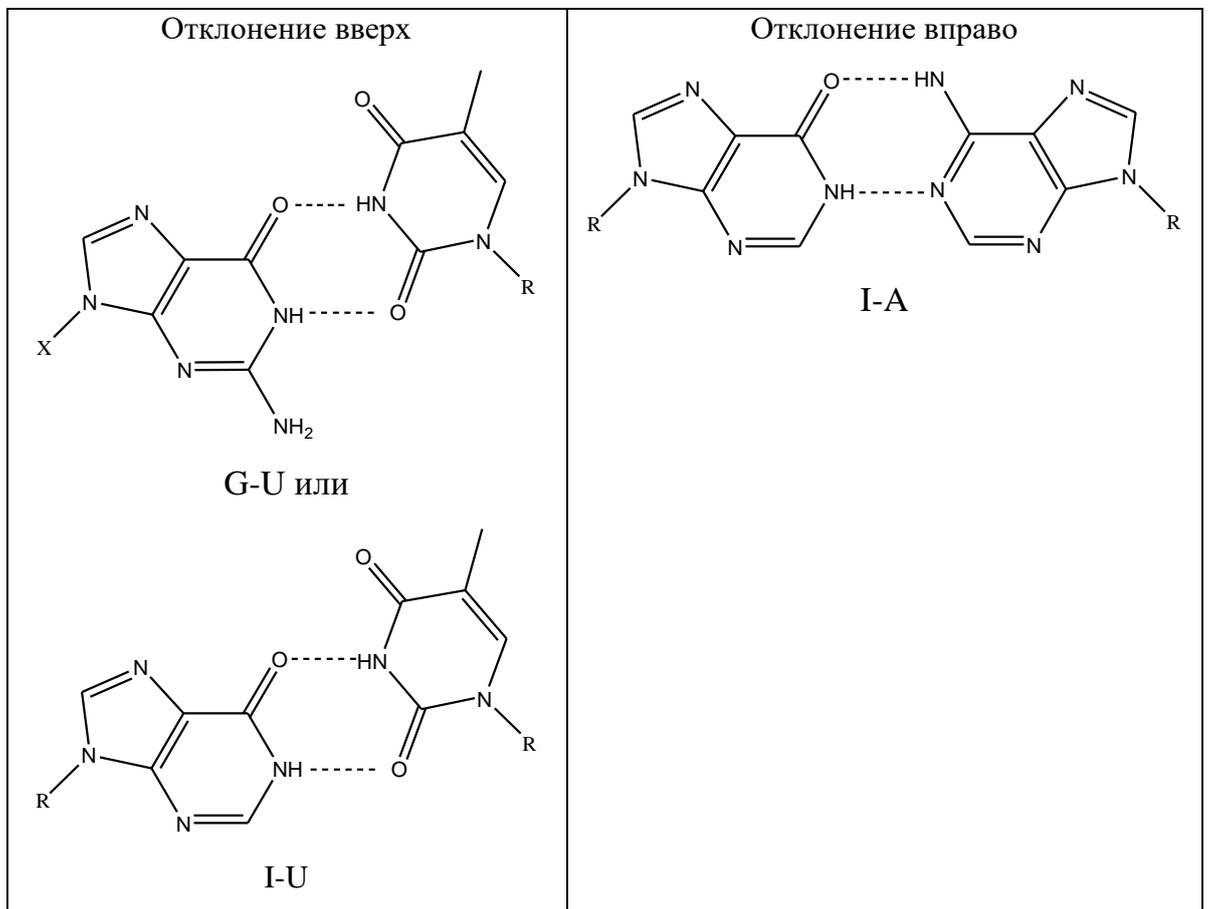
3. Изобразите все возможные обратные Уотсон-Криковские и Хугстиновские пары, каждая из которых состоит из одного главного пуринового и одного главного пиримидинового оснований.



В генетическом коде возможно 64 разных кодона. 3 из них являются стоп-кодонами, а 61 комбинация кодирует аминокислоты. В процессе трансляции каждому кодону должна соответствовать индивидуальная тРНК. Однако в реальности вариантов тРНК существенно меньше, следовательно, некоторые тРНК должны спариваться с несколькими кодонами. Для объяснения этого феномена Ф. Крик выдвинул гипотезу качания (Wobble), которая гласит, что 5'-концевое основание антикодона не столь существенно, как два других, и оно может участвовать в образовании так называемых неоднозначных пар оснований, тем самым компенсируя недостаток вариантов тРНК.

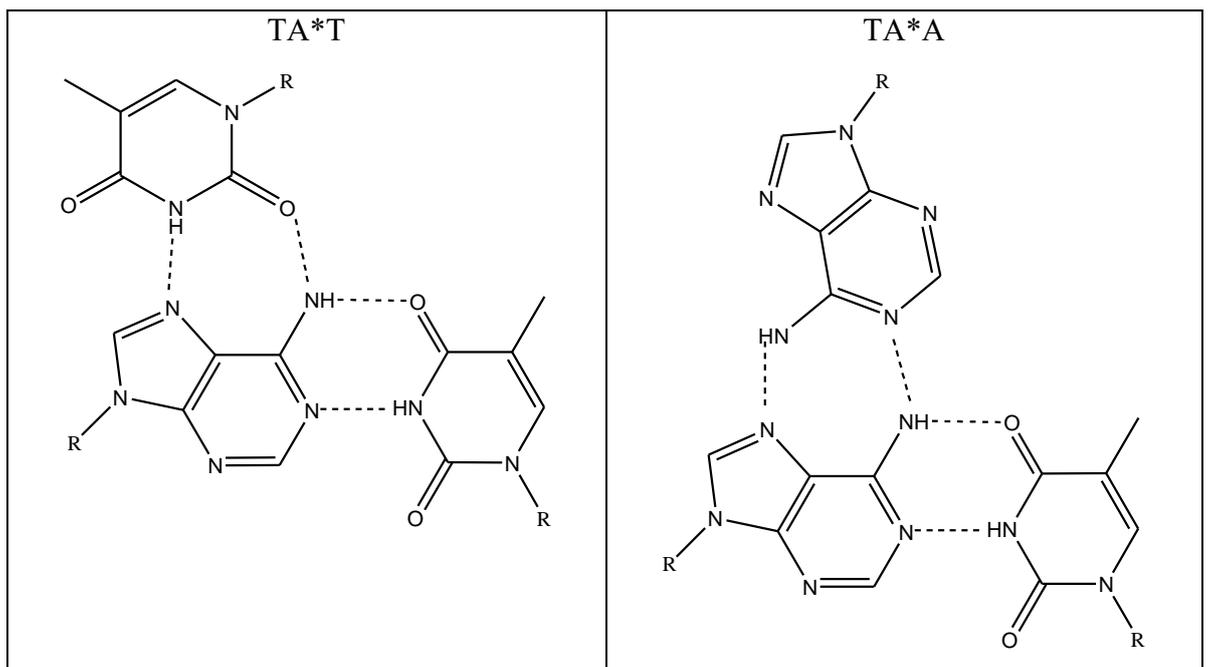
В нестандартных парах действительно наблюдается «качание», то есть отклонение геометрических параметров пары от канонических. Наиболее часто встречающимися нестандартными парами являются Уотсон-Криковские прямые пары G-U, I-C, I-U, I-A (I – гипоксантин).

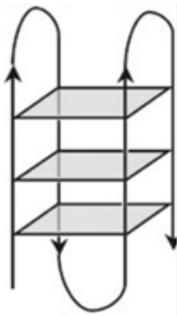
4. Изобразите нестандартные пары из перечисленных выше, в которых реализуется отклонения вверх и вправо от стандартной пары G-C. За точку отсчета примите 1'-углеродный атом рибозы, связанный с основанием, указанным в паре слева (G или I).



Наряду с общеизвестной двойной спиралью ДНК, ученые обнаружили и куда менее распространенные и загадочные тройные спирали, в которых дополнительная нить ДНК присоединяется за счет Хугстиновского спаривания (обозначено ниже «*») к традиционному дуплексу.

5. Изобразите фрагменты тройной спирали ТА*Т и ТА*А.





Обнаруженные относительно недавно фрагменты четырехцепочечной ДНК (квадруплексы) возникают в участке гена, содержащем повторяющиеся гексануклеотидные последовательности, образованные только двумя главными азотистыми основаниями. Молекулярная масса соответствующего гексануклеотида с полностью протонированными фосфатными группами составляет 1913 Да.

6. Определите молекулярную формулу искомого гексануклеотида.

Молекулярные массы полностью протонированных dTMP, dCMP, dAMP и dGMP составляют 323.2, 307.2, 331.2 и 347.2 Да, соответственно. Рассчитаем среднюю молярную массу dNMP в составе искомого гексануклеотида:

$$M_{av} = \frac{1913 + 5 \cdot 18}{6} = 333.8 \text{ Да}$$

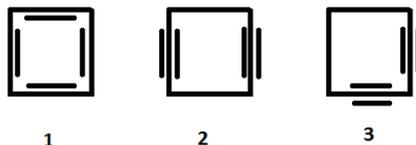
Видно, что гексануклеотид должен содержать dGMP. Отсюда можно составить три уравнения для поиска второго нуклеотида. Порядок решения приведен для правильного варианта (второй нуклеотид – dCMP):

$$347.2 \cdot n + 307.2 (6 - n) = 1913 + 5 \cdot 18, \text{ где } n - \text{ число остатков dGMP}$$

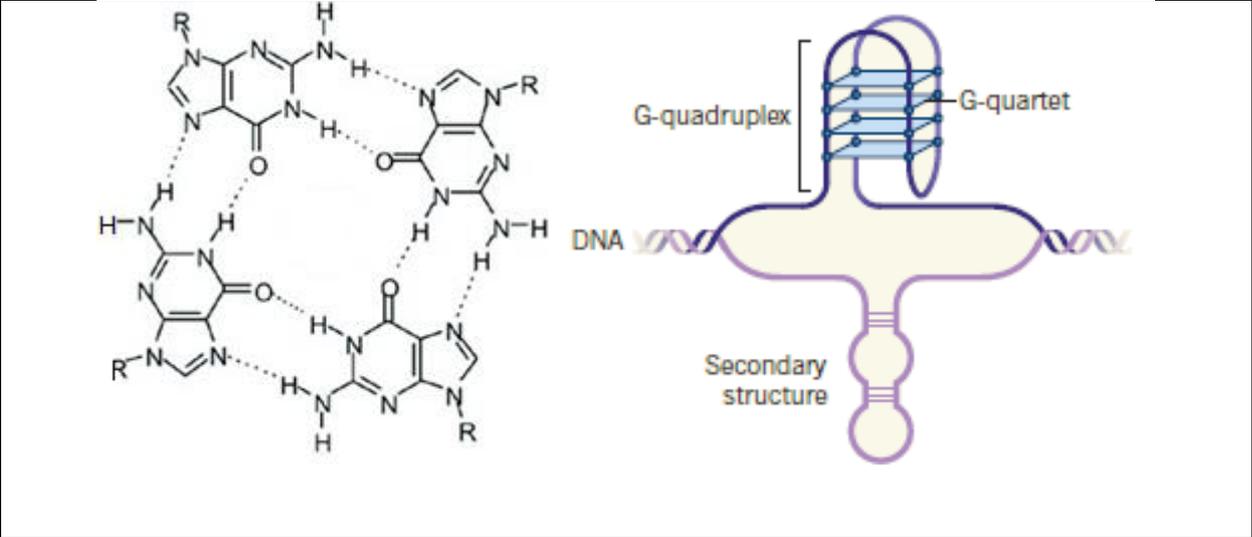
Тогда молекулярная формула гексануклеотида G_4C_2 ($n=4$): $4 \cdot C_{10}H_{14}N_5O_7P + 2 \cdot C_9H_{14}N_3O_7P - 5 \cdot H_2O = C_{58}H_{74}N_{26}O_{37}P_6$.

7. Изобразите квадруплекс ДНК, формирующийся в гене за счет восьми водородных связей в любой воображаемой плоскости, изображенной на рисунке.

Так как в квадруплекс содержит 8 водородных связей, каждое азотистое основание участвует в формировании 4-х из них, соответственно, имея четыре центра их образования (варианты 1 или 2). Асимметричный вариант 3 не возможен в виду того, что одно из оснований должно образовывать шесть водородных связей.



Варианту 1 удовлетворяет структура G_4 (водородные связи образованы взаимодействием Уотсон-Криковской стороны одного гуанинового основания с Хугстиновской стороной другого):



Лист ответов

1. Установите молекулярные формулы **A1-A4**.

Выкладки			
A1	A2	A3	A4

2. Изобразите структурные формулы **A4** и **A5**. Более токсичную для человека частицу обведите кружком.

A4	A5
-----------	-----------

3. Установите аминокислоты **B1-B3**. Используйте общепринятые трехбуквенные обозначения аминокислот.

B1	B2	B3
-----------	-----------	-----------

4. Могут ли мутации Mut1 и Mut2 быть обусловлены одностадийной химической модификацией азотистых оснований ДНК человека? Выберите один правильный ответ.

- a) могут в обоих случаях;
- b) возможна только мутация Mut1 в случае воздействия пероксида водорода;
- c) возможна только мутация Mut2, обусловленная гидролизом;
- d) нет, не могут.

5. Изобразите пару главных азотистых оснований, связанных в ДНК тремя водородными связями.

--

6. Молекулярная формула искомого гексануклеотида:

Выкладки

Формула

7. Изобразите квадруплекс ДНК, содержащий восемь водородных связей в одной плоскости.

8. Рассчитайте количество гексануклеотидов, изомерных рассматриваемой последовательности и имеющих идентичный состав главных азотистых оснований.

Выкладки

Количество:

Решение (авторы Ю.С. Головки, Б.Н. Гарифуллин)

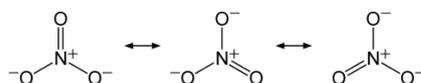
1. Общее число атомов, приходящееся на два реагента: 4 кислорода и 2 водорода. С учетом коэффициентов перед **C1** и **C2** возможны два варианта: $\text{OH} + \text{O}$ (1) или $\text{O}_2 + \text{H}$ (2). Вариант (1) теоретически может быть объяснен реакцией между короткоживущими гидроксил-радикалом и атомарным кислородом, однако протекание такой реакции в живой материи маловероятно. В свою очередь, вариант (2) может быть разумно объяснен реакцией заряженных частиц: супероксидного аниона O_2^- и протона H^+ (тем более, что соблюдается баланс по зарядам). Отсюда фермент **E** – супероксиддисмутаза [Cu-Zn].

Так как соединение **A3** будучи молекулой образовано как минимум двумя атомами, то **A1** – супероксидный анион. Соответственно, частица **A4** состоит из 4-х атомов, являясь моноанионом (баланс по атомам и зарядам). Пусть **A4** содержит n атомов кислорода ($n=0$ или 1), тогда молярная масса M соединения **A3**:

$$M(\mathbf{A3}) = 20.67 \cdot n + 9.34$$

Разумный ответ обнаруживается только при $n=1$ и $M(\mathbf{A3})=30.01$ г/моль, что соответствует оксиду азота (II) NO . Тогда молекулярная формула **A4** – NO_3^- .

2. Механизм реакции супероксидного аниона и NO подразумевает образование пероксинитрита O-O-N=O (**A4**), который изомерен нитрат-иону (**A5**).



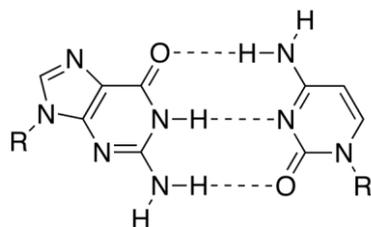
Соли азотной кислоты малотоксичны для человека, однако у младенцев способны вызывать патологическое состояние – метгемоглобинемию. В тоже время пероксинитрит будучи сильным окислителем несет гораздо бóльшую опасность для млекопитающих.

В целом, накопление активных форм кислорода, обладающих выраженным окислительным действием (**A1** и **A4**), может обуславливать гибель двигательных нейронов спинного и/или головного мозга, лежащей в основе ALS.

3. Обратим внимание, что аминокислота **B1** присутствует в обоих случаях. Это означает, что некоторые кодоны **B1-B3** имеют идентичные первую и третью буквы, различаясь только по второй. При этом в рассмотрении остаются только аминокислоты, имеющие по два или четыре кодона (один и три кодона в генетическом коде имеют по две аминокислоты в каждом случае). Легко видеть, что условию удовлетворяют тройки Phe-Tyr-Cys и Val-Ala-Gly. Однако кодоны тройки Phe-Tyr-Cys содержат больше пиримидиновых, чем пуриновых оснований, поэтому

правильный ответ – Val-Ala-Gly. В рамках заданного условия соотнести **В1-В3** с конкретными аминокислотами Val, Ala и Gly невозможно.

4. Биохимическая модификация (трансверсия) в составе нуклеиновой кислоты пуринового основания до пиримидинового, как и одностадийная трансформация С→Т и Т→С (транзакция) невозможны ни с одним реагентом. Правильный ответ – **d**).



5. Guanine Cytosine

6. Молекулярные массы полностью протонированных dTMP, dCMP, dAMP и dGMP составляют 323.2, 307.2, 331.2 и 347.2 Да, соответственно. Рассчитаем среднюю молярную массу dNMP в составе искомого гексануклеотида:

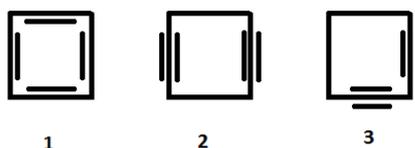
$$M_{av} = \frac{1913 + 5 \cdot 18}{6} = 333.8 \text{ Да}$$

Видно, что гексануклеотид должен содержать dGMP. Отсюда можно составить три уравнения для поиска второго нуклеотида. Порядок решения приведен для правильного варианта (второй нуклеотид – dCMP):

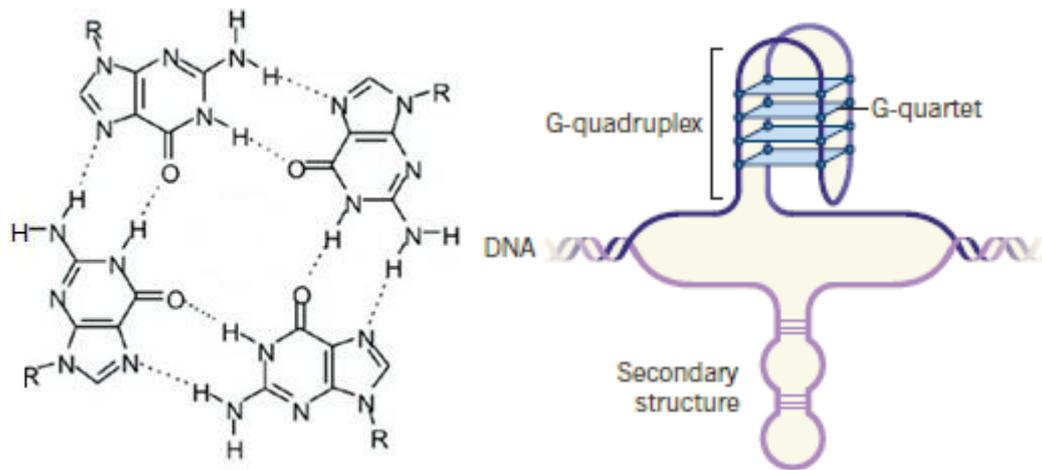
$$347.2 \cdot n + 307.2 (6 - n) = 1913 + 5 \cdot 18, \text{ где } n - \text{ число остатков dGMP}$$

Тогда молекулярная формула гексануклеотида G₄C₂ (n=4): 4*C₁₀H₁₄N₅O₇P + 2*C₉H₁₄N₃O₇P – 5*H₂O = C₅₈H₇₄N₂₆O₃₇P₆.

7. Так как в квадруплекс содержится 8 водородных связей, каждое азотистое основание участвует в формировании 4-х из них, соответственно, имея четыре центра их образования (варианты 1 или 2). Асимметричный вариант 3 не возможен в виду того, что одно из оснований должно образовывать шесть водородных связей.



Варианту 1 удовлетворяет структура G₄ (водородные связи образованы взаимодействием Уотсон-Криковской стороны одного гуанинового основания с Хугстиновской стороной другого):



8. Асимметричный вариант 3 не возможен в виду того, что одно из оснований

Участок гена *C9orf72*, способный образовывать квадруплексы, является местом первичного размещения РНК-полимеразы, т.е. обуславливает начало трансляции. Любые изменения его вторичной структуры приводят к нарушению процесса образования матричной РНК и соответствующих белков.

9. В виду неравнозначности 5'- и 3'-концов гексануклеотида для него можно может существовать количество вариантов, равное:

$$C_n^m = \frac{n!}{m!(n-m)!} = \frac{6!}{2!(6-2)!} = 15$$