

Строение нуклеиновых кислот – NS-3-1

Лекция 12

Пространственная структура одноцепочечных тРНК. Вторичная структура. Третичная структура. Пространственное строение.

Принципы пространственного строения одноцепочечных РНК, основные энергетические детерминанты структуры.

Условия существования третичной структуры.

Взаимодействие нуклеиновых кислот с водой и противоионами.

Гидрофильные группы ДНК. Особенности гидратации разных форм ДНК.

Дегидратационная природа перехода А – В и разрушения регулярной структуры ДНК.

Распределение электростатического потенциала вокруг ДНК.

<http://honiglab.cpmc.columbia.edu/>

<http://www.rtc.riken.go.jp/jouhou/image/gallery.html>

<http://gibk26.bse.kyutech.ac.jp/jouhou/jouhoubank.html>

Пространственная структура одноцепочечных тРНК

[A.Jack, J.E.Lander, A.Klug J.Mol.Biol. 1976, v.108, 619-649]

РНК – длинные одноцепочечные полирибонуклеотида

тРНК – молекулы из ~ 100 рибонуклеотидов – участвует в биосинтезе белка

3Д структура тРНК фен определена методом рентгеноструктурного анализа монокристаллов [A.Rich, M.Sundaralingam, A.Klug 1974-75]

Вторичная структура – распределение структур рибозофосфатного скелета вдоль цепи.

Третичная структура – 3Д структура

тРНК – фен - вторичная структура - клеверный лист

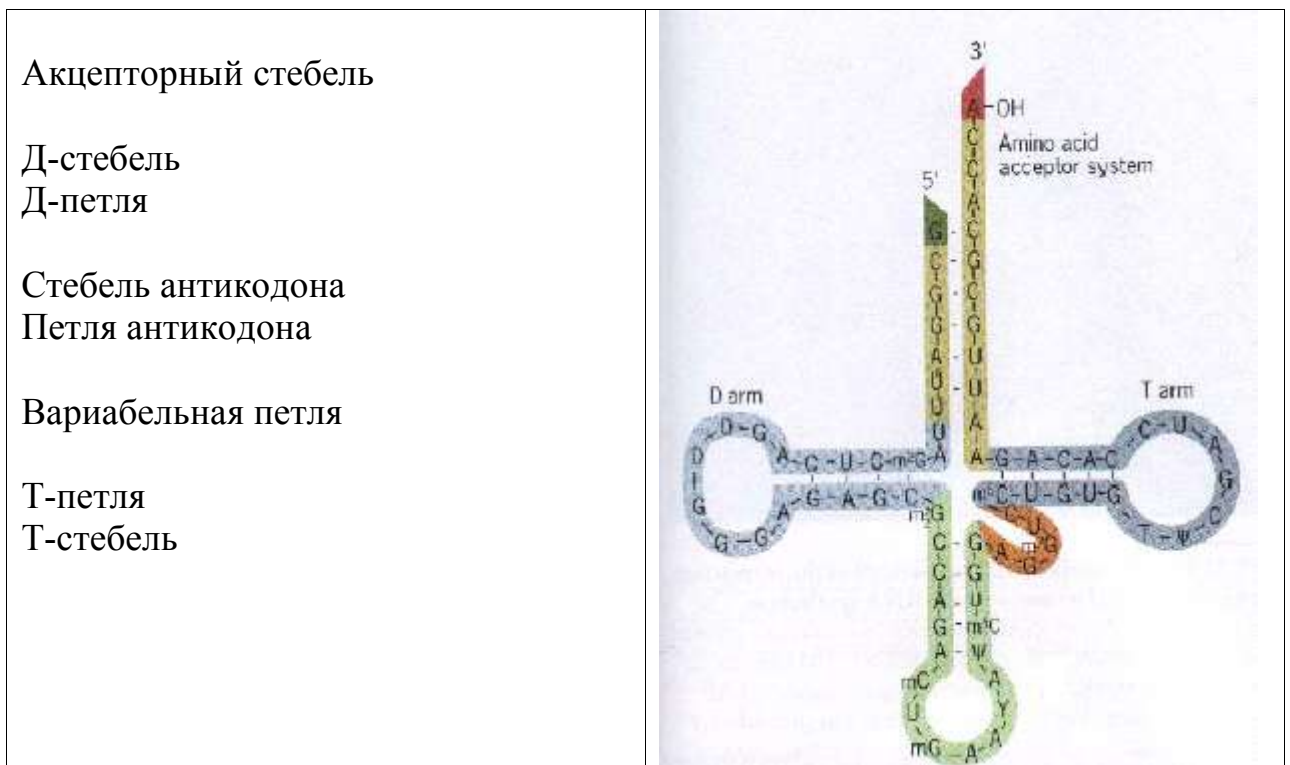


Рис. 12-1.

т-РНК-фен – нуклеотиды сближенные в пространстве

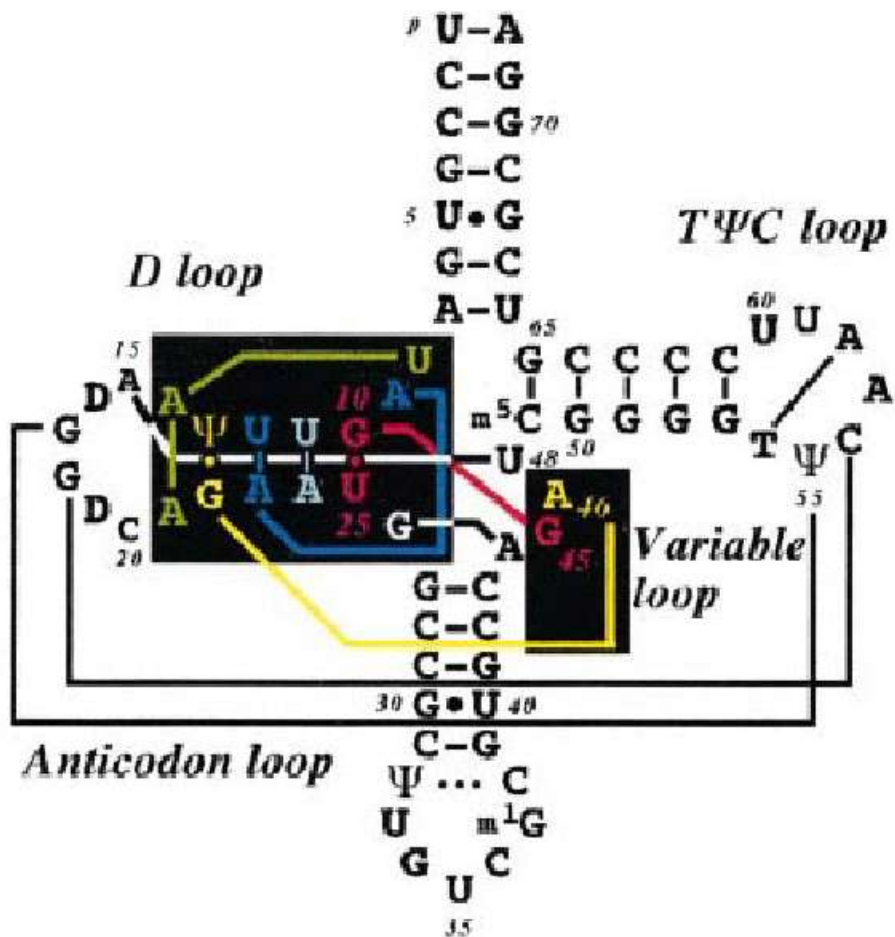
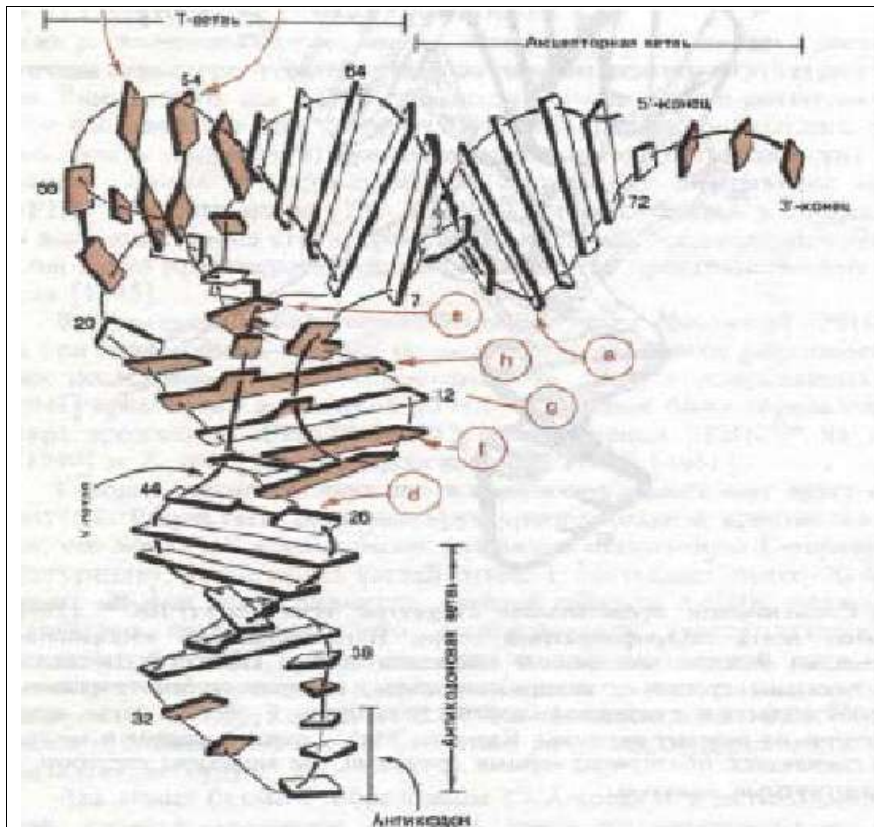


Рис. 12-2.



Инвариантные основания (по серии тРНК) – **выделены**

Взаимодействие оснований петель обеспечивает стабилизацию третичной структуры

- неканонические копланарные взаимодействия **пар оснований** и
- **триплетов оснований**

Рис. 12-4.

Принципы пространственного строения одноцепочечных РНК, основные энергетические детерминанты структуры

- **копланарные взаимодействия пар оснований**
 - канонические У-Криковские в двухспиральных стеблях
 - образование триплетов оснований X с Уотсон-Криковской парой $X \cdots W = C$:
A9 \cdots A23-U12 , **G46 \cdots G22-C13**
в переходной области между Д-стеблем и акцепторным стеблем
 - неканонические, Хугстиновские пары в области петель
 - сильная развитость неканонических копланарных взаимодействий для оснований в петлевых областях:
 - 4 основания из 5 в вариательной петле,
 - 4 основания Д-петли,
 - 4 основания Т-петли,
вовлечены в копланарные взаимодействия с 2-мя Н-связями

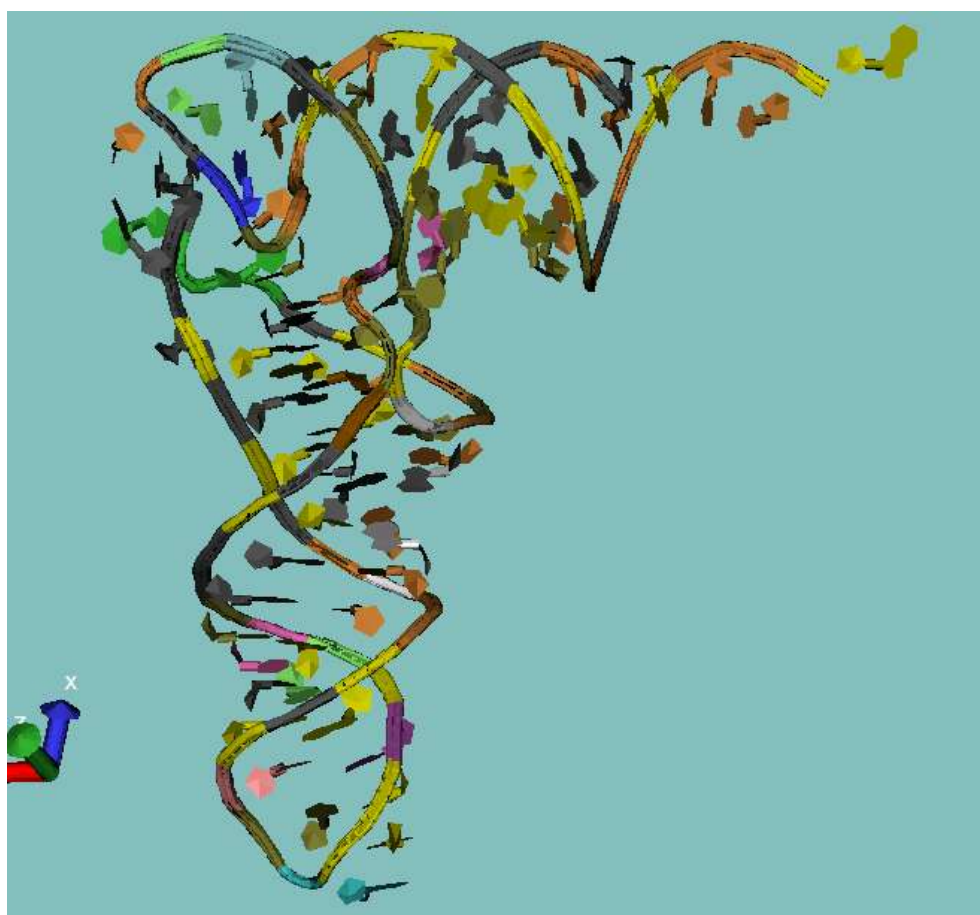


Рис. 12-5.

- **стопочное взаимодействие оснований**

- развитая система стопочных взаимодействий оснований, часто более эффективные стопочные взаимодействия чем в двойной спирали
- практически все основания вдоль цепи находятся в стопочном взаимодействии с соседними по цепи основаниями
- **интеркаляция** основания удаленного по цепи в пространство между соседними основаниями для оптимизации стопочных взаимодействий

Основание G18 интеркалирует между G57 и A58. Основание G57 интеркалирует между G18 и G19 Д-петли. Получаются хорошие стопочные взаимодействия в системе G19 G57 G18 A58

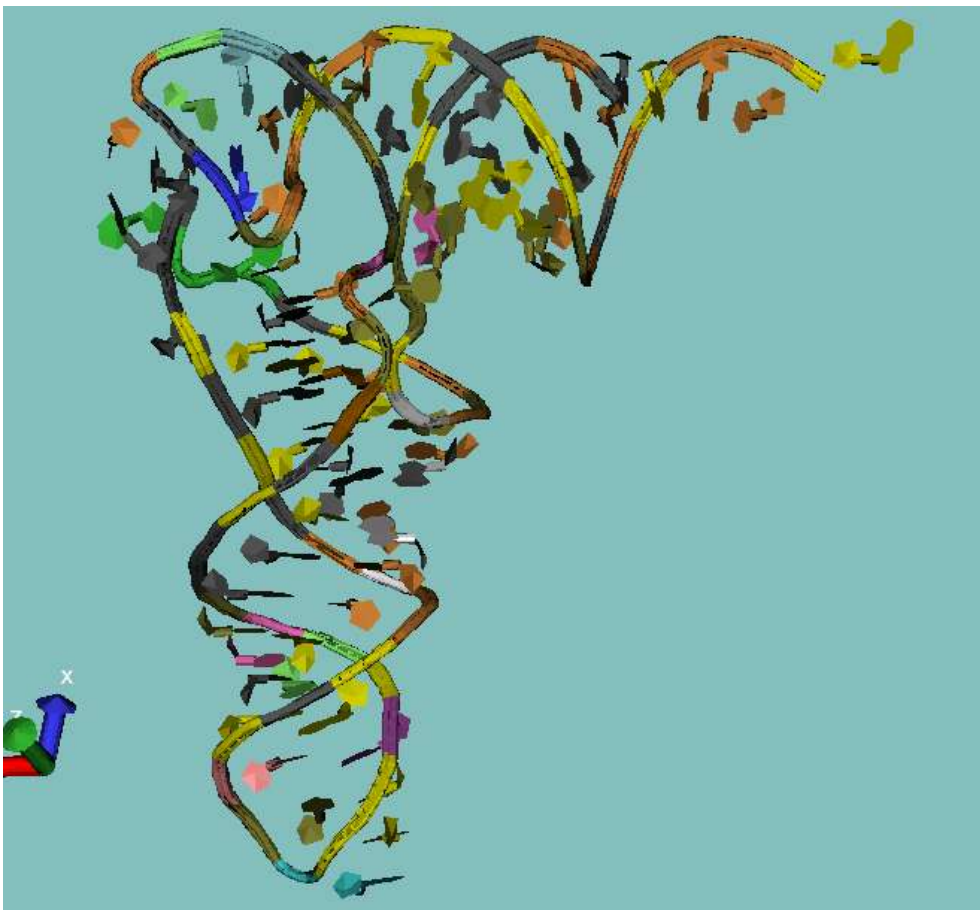


Рис. 12-6.

В пространственной структуре тРНК находят подтверждение основные принципы строения 3Д структуры нуклеиновых кислот –

- локальные конформации нуклеотидов близки к оптимальной канонической для 85% нуклеотидов, остальные 15% находятся в одной из более напряженной канонической конформации – согласованность локальных и дальних по цепи взаимодействий
- насыщенность **копланарными** взаимодействиями оснований
- максимальное развитие **стопочных взаимодействий**, формирование локальных структур коротких одноцепочечных участков, которые способны взаимодействовать между собой путем **взаимной интеркаляции**,

Структура длинных РНК - подтверждает принципы строения НК

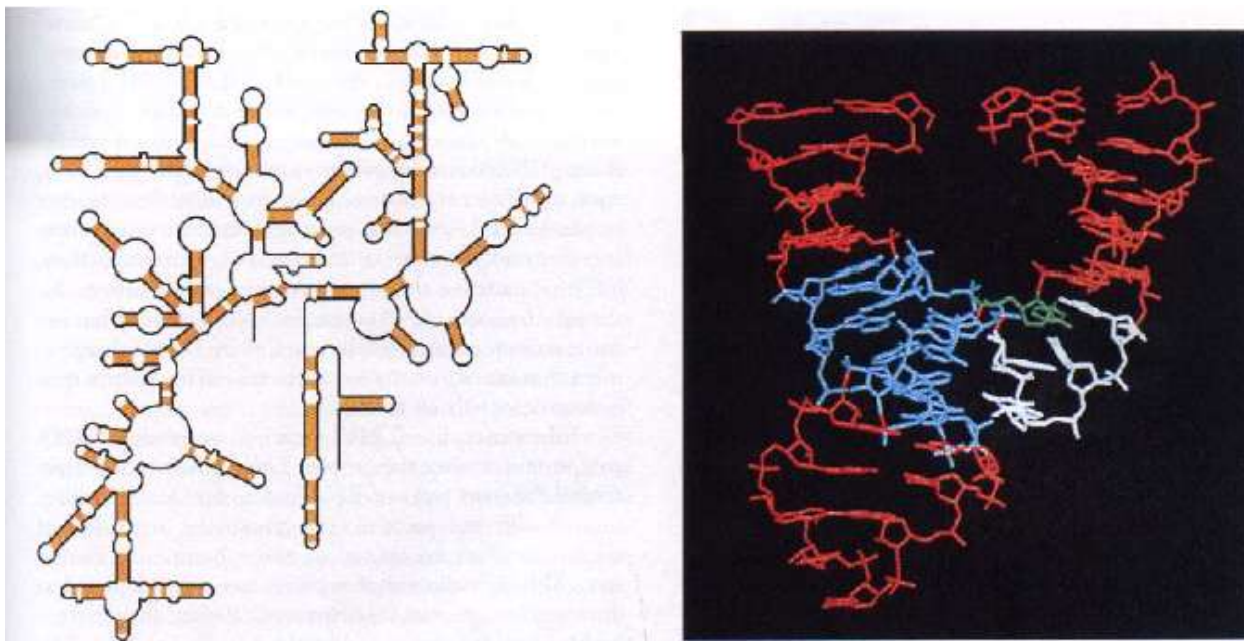


Рис.12-7.

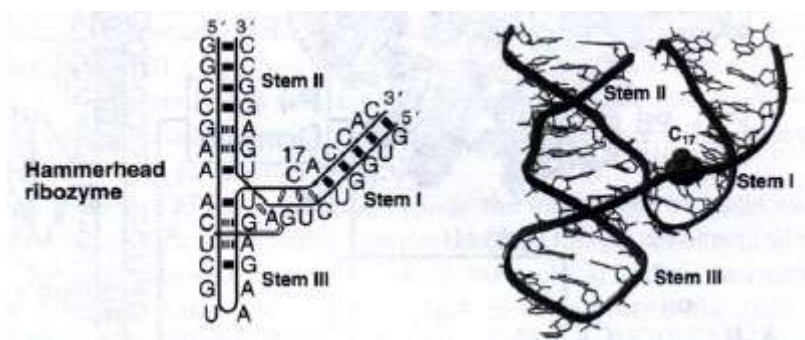


Рис.12-8.

G4-quartet – принципы строения НК

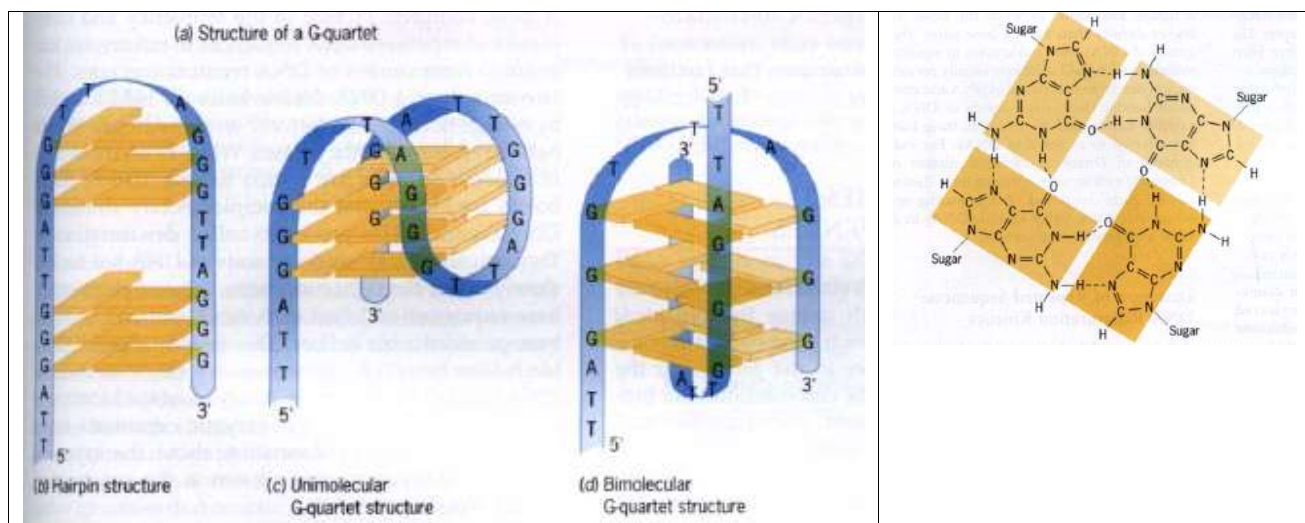


Рис.12-8.

Строение нуклеиновых кислот – NS-3-2

Взаимодействие нуклеиновых кислот с водой и противоионами.

Гидрофильные группы ДНК. Особенности гидратации разных форм ДНК.

Распределение электростатического потенциала вокруг ДНК.

Кристаллическая вода и ионы Mg^{+2} связанные с тРНК-фен

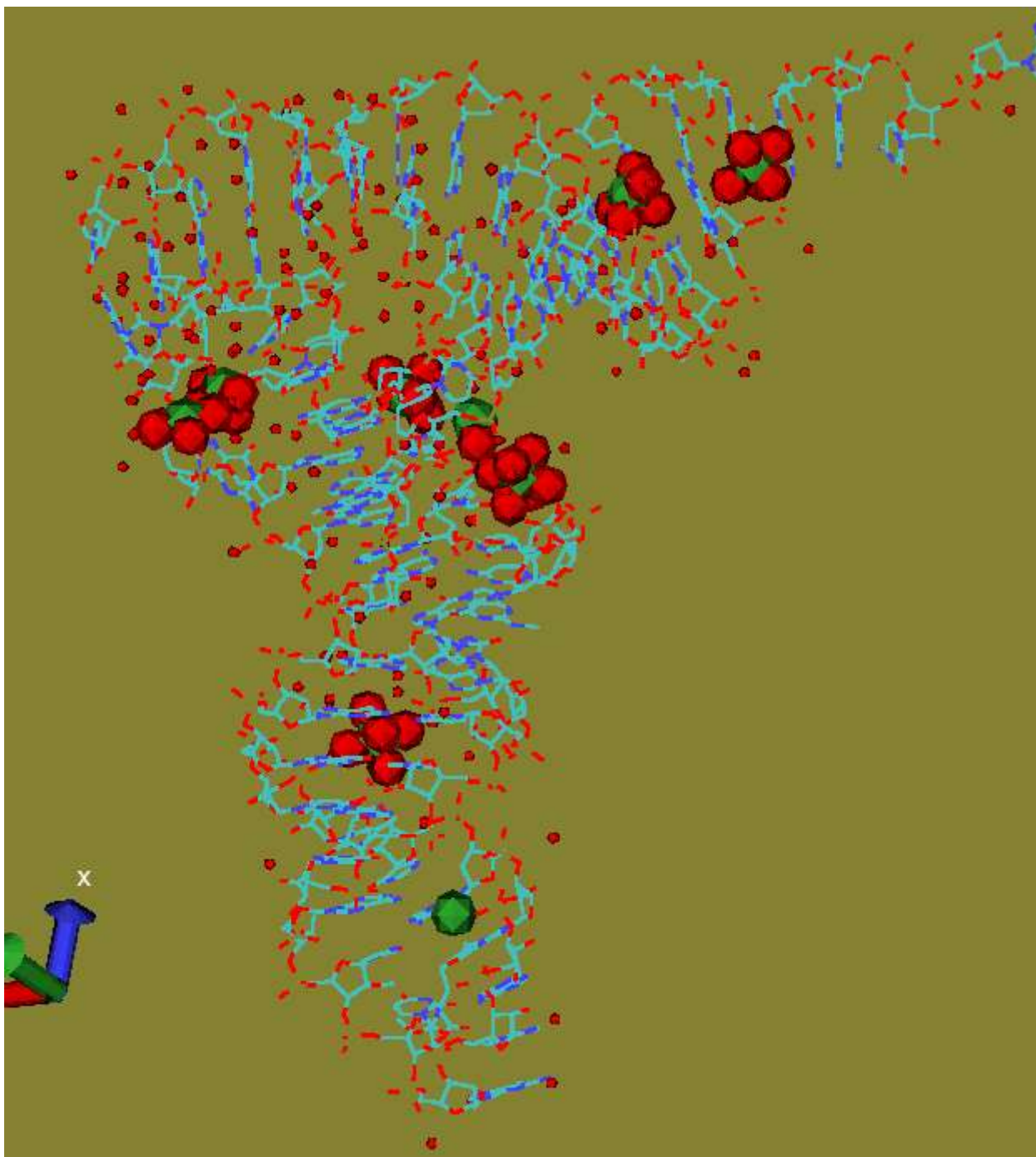
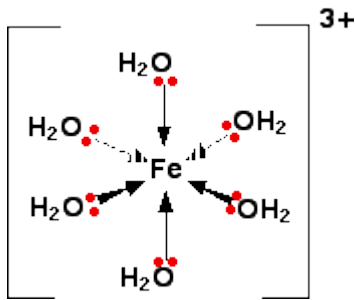


Рис. 12-9.

Октаэдрический комплекс гидратированного иона в воде



дистанция $\text{Fe} - \text{O} \sim 2.3 \text{ \AA}$ характерна для ионов Mg^{+2} , Mn^{+2} , Na^{+}
 $\sim 2.2 - 2.4 \text{ \AA}$

Взаимодействие гидратированного иона с РНК, ДНК

- **комплекс внешней сферы**
ион не теряет своей гидратной оболочки воды ,
взаимодействие с гидрофильными атомами ДНК осуществляется через
воду гидратной оболочки иона
- **слабая связь – иона с НК**
- **комплекс внутренней сферы,**
атомы O, N из химических групп НК или аминокислот белка,
замещает
одну (или несколько) молекул воды из гидратной оболочки иона
- **сильная связь – иона с НК**

Закономерности гидратации РНК

- основания расположены во внутренней части молекулы, **заряженный сахарофосфатный остов формирует гидрофильную поверхность молекулы**
- Большая концентрация зарядов фосфатных групп в нерегулярной структуре тРНК нейтрализуется противоионами и двухвалентными ионами **Mg⁺²**
- **ионы Mg⁺²** связаны в центральной части молекулы и координируют фосфорильные кислороды соседних фосфатных групп
- одновалентные ионы мобильны при T=300K, т.е. комнатной температуре

Уменьшение концентрации соли ниже 0.1 М приводит к разрушению нативной структуры тРНК

Гидратация ДНК

В- форма наиболее устойчива в водном растворе

При дегидратации $RH < 92\%$ или объемной концентрации спирта в воде выше 70-75% , В-форма переходит в А-форму.

При дегидратации ниже $RH = 75\%$, начинается разрушение регулярной структуры А-ДНК, полностью разупорядочивается при $RH = 55\%$, отсутствует дифракционная картина.

- Экспериментальными методами показано, что фосфорильные кислороды – это наиболее гидратированные места ДНК. В среднем на фосфатную группу приходится 2 молекулы воды.
- Далее по способности гидратации идут:
Атомы кислорода (фосфодиэфирные) P-O-C и рибозы C-O-C
- атомы N, O оснований выходящие в малую и большую бороздки

Хорошо организованная структура ДНК при $RH > 75\%$ имеет 4, 5 молекул воды гидратирующих каждую пару оснований. Вода заполняет монослоем малую и большую бороздки ДНК при $RH \sim 75\%$, образуя структурированную сетку Н-связей

Далее накапливается в бороздках как менее структурированная, объемная вода

АТ пары гидратируются сильнее чем GC пары.

АТ пары способны формировать водные мостики между N3(A)...W...O2(T) соседних пар оснований. Поэтому поли(A)*поли(T) последовательности или тракты более устойчивы в В-форме, остаются в В-ворме при большем высушивании, чем GC последовательности

-

Водный хребет в ДНК **A...T** тракта - важный элемент стабилизации В-формы
водные мостики между N3(A)...W...O2(T) соседних пар оснований

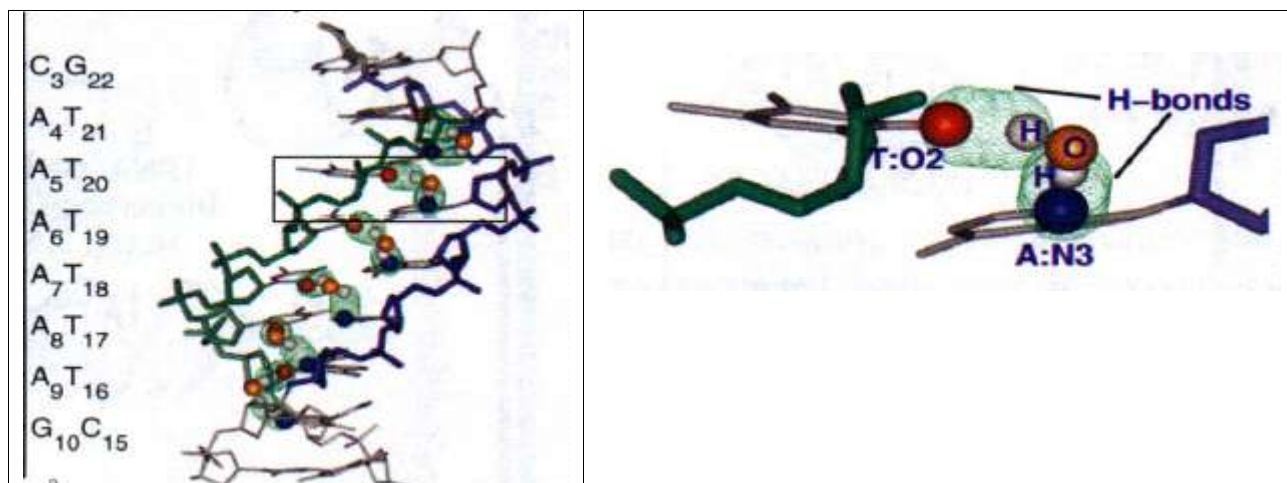


Рис.12-10.

Взаимодействие ионов с ДНК

Теория конденсации –

- вокруг полиона ДНК формируется слой мобильных гидратированных однозарядных ионов в слое $\sim 7 \text{ \AA}$. Концентрация ионов в этом слое относительно независима от объемной концентрации ионов. Ионы поверхностного слоя нейтрализуют $\sim 76\%$ заряда фосфатных групп.
- мобильные ионы производят электростатическое дебаевское экранирование электростатических взаимодействий фосфат-фосфат и увеличивают изгибные флуктуации оси ДНК и способность к суперспирализации ДНК.

Электростатический потенциал ДНК –

Наиболее **сильный** в малой бороздке – между двумя нитями **PO4-** групп

Таблица.12-1. Стерическая доступность и электростатический потенциал В-ДНК

Atom	EP, kcal/mol	SAS, Å ²
G: N3	-670.0	0.05
N7	-686.0	4.1
O6	-654.0	2.7
C8	-630.0	1.0
C: O2	-645.0	0.16
N4	-602.0	0.19
C5	-569.0	0.32
A: N3	-668.0	0.7
N7	-650.0	2.6
C8	-610.0	0.9
T: O2	-663.0	0.9
O4	-612.0	2.2
PO4- : O1	-609.0	9.1
O2	-609.0	4.2
O3'		0.0
O5'		1.9