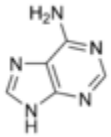
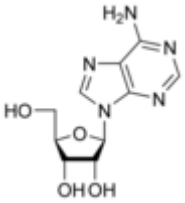
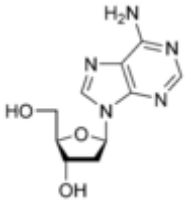
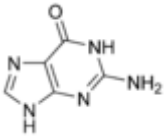
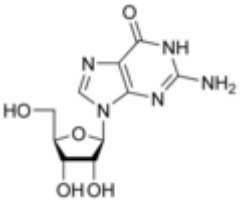
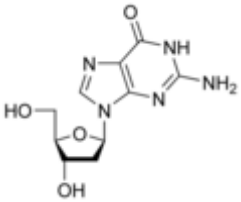
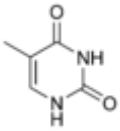
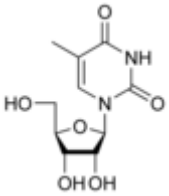
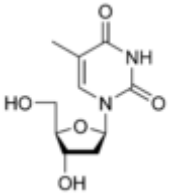
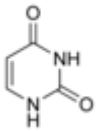
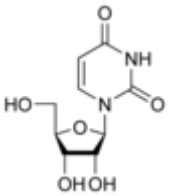
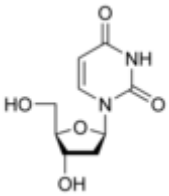
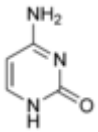
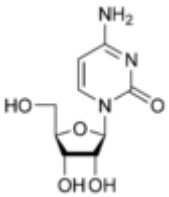
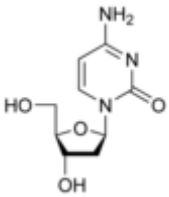
UNIWERSYTET PRZYRODNICZY w Lublinie
WYDZIAŁ MEDYCYNY WETERYNARYJNEJ

Katedra Biochemii
ul. Akademicka 12, 20-033 Lublin
tel. 081 445 66 08
www.biochwet.up.lublin.pl

Kwasy nukleinowe

Zasada heterocykliczna	Nukleozyd	deoksynukleozyd
 adenina	 adenozyna A	 deoksyadenozyna dA
 guanina	 guanozyna G	 deoksyguanozyna dG
 tymina	 5-metylourydyna m^5U	 tymidyna T
 uracyl	 urydyna U	 2'-deoksyurydyna dU
 cytozyna	 cytydyna C	 deoksycytydyna dC

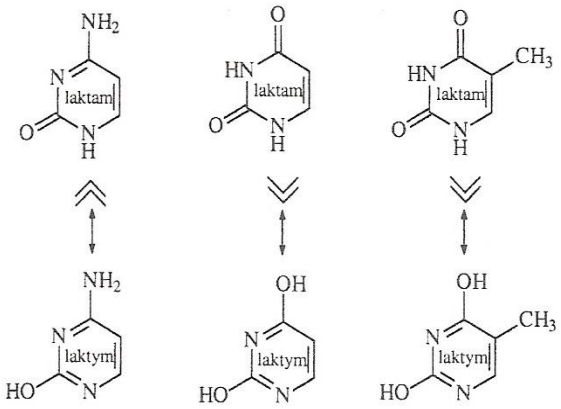
Zachowanie integralności materiału genetycznego leży u podstaw życia. Przekazywanie informacji genetycznej oparte jest na regule komplementarności, która zakłada parowanie tylko ściśle określonych zasad Purynowych z pirymidynowymi. Powstają pary: adenina – tymina połączone 2 wiązaniami wodorowymi oraz guanina – cytozyna połączone 3 wiązaniami wodorowymi.

W warunkach fizjologicznych dominującą ilościowo postacią tyminy i uracylu jest laktam, natomiast cytozyny – laktym.

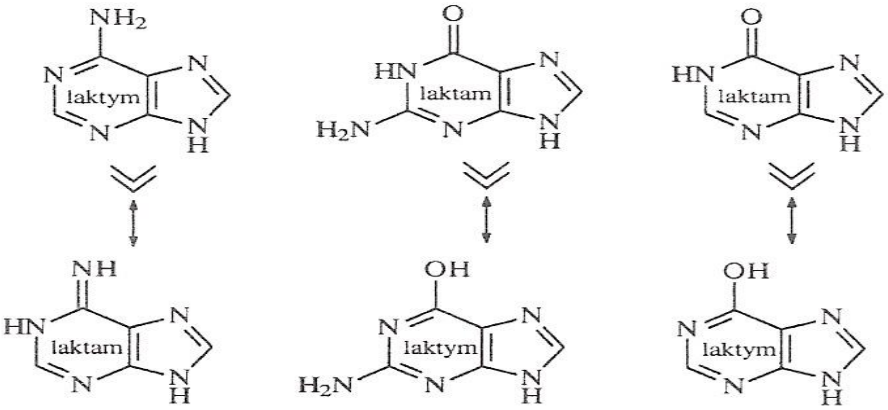
Mutagenny efekt tautomerii zasad pirymidynowych wynika z faktu, że laktym tyminy tworzy komplementarną parę z guaniną zamiast adeniną.

W warunkach fizjologicznych głównymi formami tautomerycznymi guaniny i hipoksantyny są tautomery laktamowe, natomiast dominującą formą adeniny jest laktym.

Laktamowa forma tautomeryczna adeniny tworzy parę z cytozyną, co może leżeć u podłoża mutagenezy.



cytozyna [Cyt] uracyl [Ura] tymina [Thy]



adenina [Ade] guanina [Gua] hipoksantyna [Hyp]

W konsekwencji wszystkie komórki mają mechanizmy naprawiające uszkodzony DNA.

Źródłem uszkodzeń DNA są:
o endogenne uszkodzenia spowodowane min. przez działanie reaktywnych form tlenu powstałych w prawidłowych procesach metabolicznych komórki zwłaszcza w procesie oksydacyjnej deaminacji
o egzogenne uszkodzenia spowodowane przez :

- czynniki fizyczne:
  - promienie UV,
  - promienie jonizujące,
  - szok temperaturowy
- czynniki chemiczne:
  - kwas azotawy,
  - nadtlenki,
  - hydroksyloamina,
  - czynniki alkalizujące,
  - analogi zasad azotowych ,
  - leki psychotropowe,
  - niektóre antybiotyki
- czynniki biologiczne:
  - niektóre wirusy

Endogenne czynniki powodują następujące rodzaje uszkodzeń:

- oksydacja zasad azotowych i przerwanie nici DNA spowodowanej działaniem reaktywnych form tlenu,
- usuwanie komplementarnej zasady w czasie replikacji DNA,
- metylacja zasad azotowych.

Rodzajami uszkodzeń spowodowanych przez egzogenne czynniki są:

- promienie UV - powodują zmiany dotyczące zasad pirymidynowych. Pod ich działaniem dochodzi do syntezy dimerów pirymidynowych T-T, C-C, T-C, powodujących zaburzenia w replikacji DNA. Promieniowanie UV wywołuje mutacje typu tranzycji i transwersji.
- promienie jonizujące – ich skutkiem jest transformacja nowotworowa.
- kwas azotawy – powoduje deaminację zasad azotowych. Reakcja ta doprowadza do przemiany adeniny w hipoksantynę, cytozyny w uracyl, a guaniny w ksantynę. Konsekwencją tego jest zastąpienie pary A-T parą G-C. Po replikacji DNA dochodzi do tranzycji.
- analogi zasad azotowych : 5-bromouracyl, 2-aminopuryna prowadza do tranzycji.
- hydroksyloamina – modyfikuje cytozynę. Powoduje to przejście pary C-G w parę A-T.

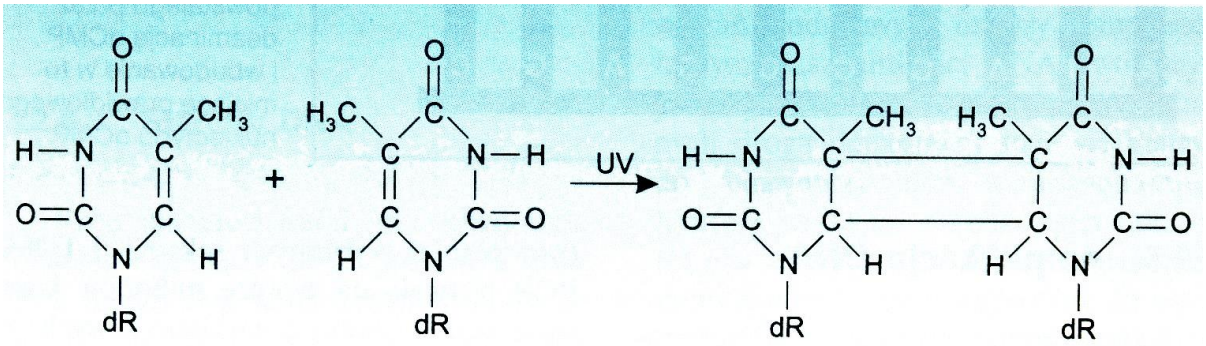
- niewłaściwe przechowywanie żywności prowadzi do powstania grzybów mających działanie kancerogenne(aflatoksyny)
- niektóre środki konserwujące żywność np. azotyny są czynnikami mutagennymi.
- barwniki akrydynowe – wnikając między pary zasad powodują ich rozsunięcie a w konsekwencji błędy w replikacji.

Uszkodzenia DNA polegają najczęściej na :

- przerwaniu pojedynczej nici DNA
- dimeryzacji sąsiadujących ze sobą zasad pirymidynowych T=T
- deaminacji cytozyny i przekształcenie jej w uracyl.

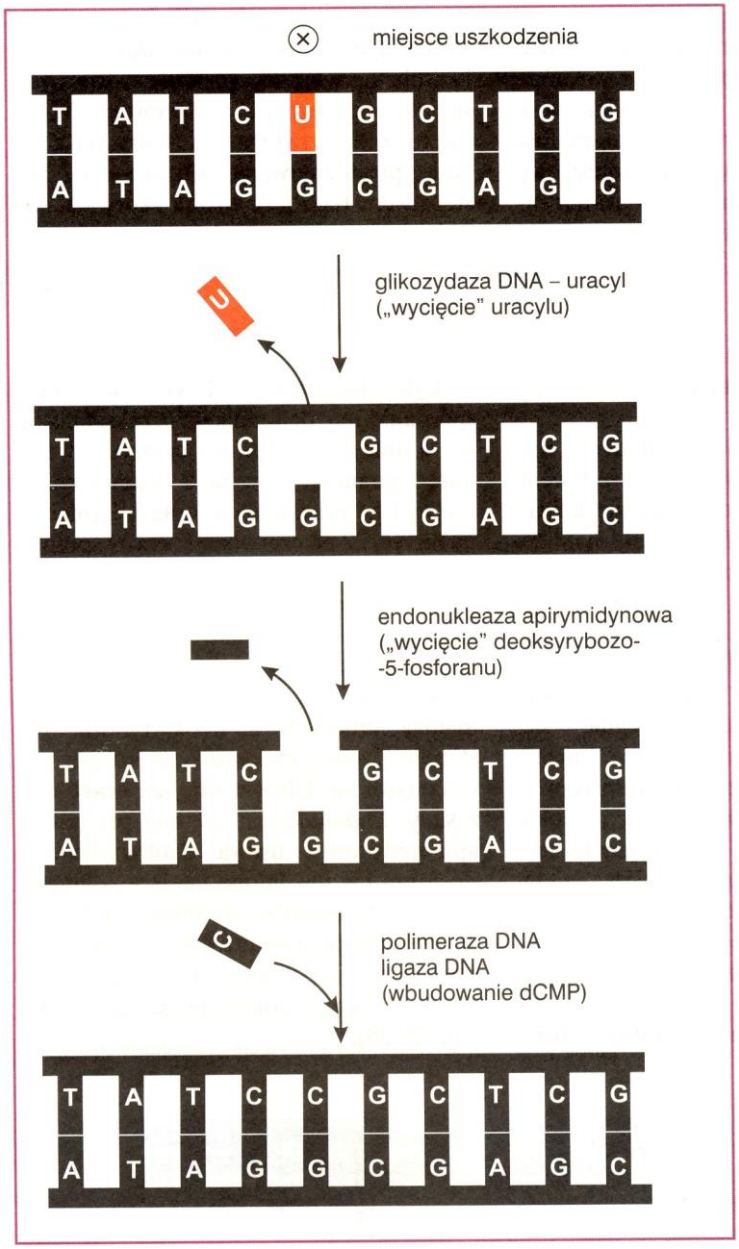
Przerwanie nici DNA może być wywołane np. działaniem **endonukleazy.** Naprawa polega na działaniu **ligazy DNA.**

Pod działaniem światła ultrafioletowego sąsiadujące ze sobą T=T dimeryzują. Powstały dimer musi być wycięty gdyż hamuje replikację. W bezpośrednim sąsiedztwie dimeru lub obok niego wiązanie fosfodiestrowe rozrywa **endonukleaza.** Wadliwy dimer „odgina się" umożliwiając drugiej nici pełnienie funkcji matrycowej. Biosyntezę prawidłowego odcinka DNA w kierunku 5'- 3' przeprowadza **polimeraza DNA.** Wadliwy dimer zostaje usunięty dzięki **polimerazie I. Ligaza** łączy nowo powstały odcinek DNA. Wrodzony brak endonukleazy jest przyczyną defektu metabolicznego – **kserodermii.** Defekt ten objawia się nadwrażliwością skóry na promieniowanie słoneczne, którego następstwem jest atrofia skóry i skłonność do nowotworów skóry.



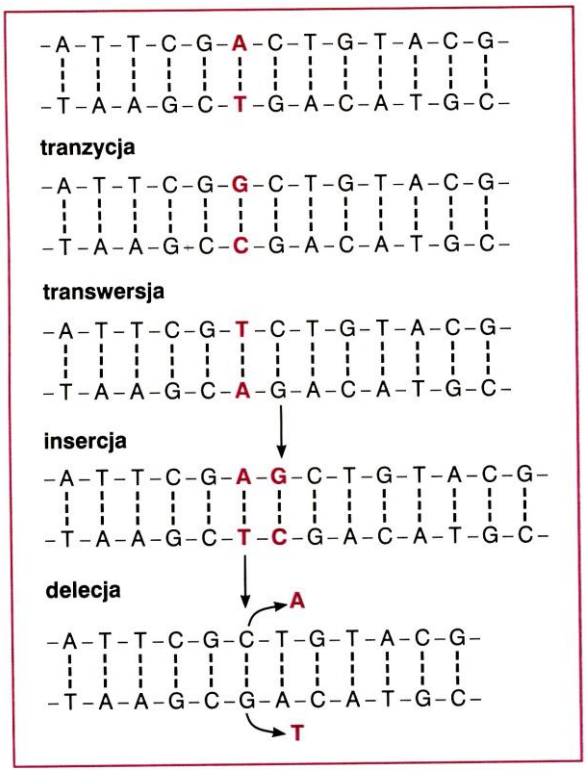
Cytozyna prawidłowo tworzy parę z guaniną C=G. W wyniku deaminacji powstaje uracyl dając nieprawidłową parę U=G. System naprawczy polega na hydrolizie wiązania N-beta-glikozydowego pomiędzy uracylem a deoksyrybozą przez swoistą **glikozydazę DNA-uracyl.** W miejscu brakującej zasady swoista **endonukleaza** przerywa nić DNA i następnie usuwa deoksyrybozo-5-fosforan . W uwolnione miejsce zostaje wprowadzony właściwy nukleotyd dCMP, komplementarny do dGMP przez **polimerazę DNA. Ligaza DNA** zespala

naprawione końce.



Zmiany w sekwencji nukleotydowej DNA to **mutacje** wśród których wyróżniamy:

- tranzycje - zastąpienie jednej zasady purynowej drugą purynową lub jednej pirymidynowej drugą zasadą pirymidynową,
- transwersje – zastąpienie zasady purynowej pirymidynową i odwrotnie,
- delecje – wypadnięcie pary nukleotydowej,
- addycje(insercje) – wbudowanie dodatkowej pary nukleotydowej



Mutacje mogą być:

- samoistne
- wywołane przez analogi zasad azotowych
- wywołane przez czynniki modyfikujące zasady DNA

Ustalono, że przyczyną takich dziedzicznych chorób jak: fenyloketonuria, albinizm, alkaptonuria, hemofilia są mutacje, które powodują syntezę zmodyfikowanych polipeptydów wchodzących w skład odpowiednich enzymów. Zmodyfikowanie tych enzymów powoduje zaburzenia procesów biochemicznych.

Pewna odmiana anemii zwana sierpowatą charakteryzuje się różnicą w składzie białka jakim jest łańcuch beta hemoglobiny. Łańcuch ten zawiera 146 aminokwasów, a szósty aminokwas łańcucha- kwas glutaminowy zastąpiony jest waliną.

Kolejnym przykładem patologicznych skutków mutacji jest wrodzona łamliwość kości. Choroba ta spowodowana jest zmianą w sekwencji aminokwasów łańcucha tropokolagenu typu I. Konsekwencją tego jest obniżona odporność mechaniczna włókien kolagenowych.

Poznanie właściwości kwasów nukleinowych oraz reguł przenoszenia informacji genetycznej umożliwiło wprowadzenie nowych metod laboratoryjnych do diagnostyki wirusologicznej i inżynierii genetycznej. Wymienić tu należy łańcuchową reakcję polimerazową (PCR), Southern blotting, Northern blotting.

Lublin, 28 maja 2014.